

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Pseudotuberculose streptobacillaire du surmulot. (*Mus decumanus*.)

PAR J. SABRAZÈS, DE BORDEAUX.

La pathologie des muridés est à l'ordre du jour, depuis que l'on connaît le rôle joué par ces rongeurs dans la propagation de la peste. Trouve-t-on des rats morts à fond de cale, dans un port de commerce faisant le transit avec les pays où la peste est endémique, et les organes de ces rats sont-ils parsemés d'abcès miliaries, l'idée de manifestation pesteuse vient à l'esprit. Or il faut bien savoir que le bacille de Yersin n'est pas le seul microorganisme susceptible de déterminer des lésions de cet ordre chez les muridés; des souris, un rat blanc de laboratoire ont été trouvés porteurs de lésions analogues sans qu'on ait pu incriminer la peste: il s'agissait de pseudotuberculose streptobacillaire ainsi qu'en témoignent les relations de Kutscher¹, Galli-Valerio², Bongert³.

Ce sont des cas semblables que nous avons observés chez le rat d'égoût, rat gris ou surmulot (*mus decumanus*⁴).

1. KUTSCHER. Ein Beitrag zur Kenntniss der bacillären Pseudotuberculose der Nagethiere (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskr.*, 1894).

2. BR. GALLI-VALERIO. *Le neoformazioni nodulari nell' organismo dell' Uomo e degli animali domestici* (Parma, 1897).

Études sur les néoformations nodulaires; la pseudotuberculose bactérienne des cobayes (*Arch. de parasitologie*, 1901.)

3. BONGERT. Corynethrix pseudotuberculosis murium (*Zeitschrift für Hyg. und Infectionskr.* 1901).

4. Voici quels sont les caractères différentiels du surmulot et du rat noir:

Rat surmulot, *Mus decumanus* Pallas, vulgairement rat gris, rat d'égoût: pelage blanc-roussâtre ou gris-noirâtre en dessus, blanchâtre ou cendré clair en

Le bacille de Yersin et les streptobacilles de la pseudotuberculose des rongeurs sont loin, du reste, de représenter à eux seuls tous les agents de la pathologie microbienne des diverses espèces du genre rat; qu'il nous suffise de citer le *bacillus murisepticus* R. Koch¹ de la septicémie des souris, le *bacillus typhimurium* Loeffler², les bacilles de Danysz³, de Laser⁴, de Mereshkowsky⁵, de B. Issatschenko⁶, le microbe de la peste proprement dite des rats, microbe qui ne se confondrait pas, d'après A. Edington⁷, avec celui de la peste bubonique.

Un surmulot, capturé à l'hôpital Saint-André de Bordeaux en mai 1900, est intoxiqué, le lendemain de sa prise au piège, par ingestion de minium incorporé à de l'essence de térébenthine; il succombe sous nos yeux, au bout de quelques heures, et son autopsie immédiate révèle, en outre d'altérations gastro-intestinales imputables à la substance toxique, des lésions suppuratives, d'aspect fibro-caséeux, exclusivement limitées au foie et aux poumons. Sous la capsule de Glisson on voit une granulation lenticulaire, remplie de pus blanc grisâtre; à la surface des deux poumons, des collections purulentes d'aspect pustuleux, bombant sur la plèvre, des cavernules remplies d'un pus concret jaune verdâtre, des stries grisâtres, sortes de trai-

dessous. Tête et corps : 0^m,25; queue : 0^m,18, soit un peu moins longue que le corps. Beaucoup de sujets atteignent une plus forte taille.

Rat noir, *Mus rattus* Linné : parties supérieures noirâtres, sans mélange de roussâtre; parties inférieures d'un gris noirâtre (cendré foncé). Tête et corps : 0^m,20; queue : 0^m,22, c'est-à-dire plus longue que le corps.

1. R. KOCH. Ueber die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten, 1878.

2. LOEFFLER. Ueber Epidemien unter den im hygienischen Institute zu Greifswald gehaltenen Mäusen und über die Bekämpfung der Feldmausplage. (*Centralbl. für Bakt.*, 1899.)

3. DAINYSZ. Emploi des cult. artif. de microbes pathog. à la destruction des rongeurs (*C. R. de l'Ac. des sc.*, 1893). — Un microbe pathogène pour les rats (*Mus decumanus* et *mus rattus*) et son application à la destruction de ces animaux (*Annales de l'Institut Pasteur*, avril 1900).

4. LASER. Ein neuer für Versuchsthiere pathogener Bacillus aus der Gruppe der Fretchen-Schweineseuche (*Centralbl. für Bakt.*, 1892).

5. MERESHKOWSKY. Zur Frage über die Virulenz des Löffler'schen Maustyphusbacillus (*Centralbl. für Bakt.*, 1894). — Ein aus Ziegelmäusen ausgeschiedener und zur Vertilgung von Feld-, resp. Hausmäusen geeigneter Bacillus (*Centralbl. für Bakt.*, 1895).

6. B. ISSATSCHENKO. Ueber einen neuen für Ratten path. Bacillus (*Centralbl. für Bakt.*, 1898). — Untersuchungen mit dem für Ratten pathogenen Bacillus (*Centralblatt für Bakt.*, 1902).

7. A. EDINGTON. Vorläufige Mitteilung über eine Krankheit der Ratten in Kapstadt (*Centralbl. f. Bakt.*, 1901).

nées purulentes entourées d'un liseré brun rougeâtre. La plèvre pariétale montre, des deux côtés, un semis de grains purulents d'un gris jaunâtre. Il existe des adhérences des deux feuillets pleuraux, adhérences plus marquées à gauche. L'examen des autres organes ne révèle rien d'anormal. L'affection suppurative était cantonnée à l'appareil pleuro-pulmonaire et commençait à envahir le foie.

Le pus compact, crémeux, provenant de ces lésions, se laisse écraser facilement. Il ne contient ni bacilles de Koch, ni champignon actinomycosique, ni levures, ni mucédinées, ni parasites animaux. Il recèle de très nombreux bâtonnets (fig. 1 Gr. = 600) longs de 8 à 11 μ , grêles (0,35 environ d'épaisseur), un peu effilés, onduleux, non ramifiés, immobiles, placés parfois bout à bout, avec des segments intercalaires souvent inégaux. Ces bâtonnets ne restent colorés ni par le Ziehl-Neelsen ni par le Gram; il ne se teignent pas en brun acajou par l'iode; tous les colorants basiques les mettent en évidence¹.

Ensemencé sur gélose, ce pus a fourni des cultures pures du bâtonnet trouvé en si grande abondance dans les préparations : semis de colonies rondes, un peu jaunâtres par transparence, plates, mesurant en moyenne, à l'acmé de leur croissance, un millimètre de diamètre.

Ces colonies sont formées de bacilles (fig. 2 Gr. = 600) juxtaposés, enchevêtrés, coudés ou disposés bout à bout, d'aspect granuleux à un fort grossissement, de longueur variable (2 à 9), d'épaisseur oscillant entre 0,3 et 0,4. Pas de sporulation. Pas de cils.

Transporté en strie sur gélose, à la température de 37°, ce microbe forme une trainée transparente, de la couleur du milieu, à surface un peu chagrinée, à bords sinueux, légèrement surélevés, limités par un double contour plus ou moins marqué. Même aspect sur gélose glycinée et sur sérum coagulé. Pas de liquéfaction de la gélatine.

Le bouillon de bœuf peptonisé se trouble quelques heures après l'ensemencement; sa réaction reste alcaline; pas de production d'indol. Le bouillon ne tarde pas à se couvrir d'une membrane mince qui se fragmente ultérieurement : le milieu

1. Ce cas a fait l'objet d'une communication préliminaire à la Société linnéenne de Bordeaux (1900) en collaboration avec notre élève, M. Mathis, qui nous a aidé dans l'exécution matérielle de nos recherches.

exhale alors une odeur de colle forte de menuisier et il s'y précipite des phosphates; puis les débris pulvérulents de la membrane tombent au fond du tube et le liquide se clarifie au-dessus. Dans le bouillon lacto-carbonaté, trouble uniforme avec rudiment de voile; pas de fermentation.

Sur pomme de terre, croissance lente et médiocre (traînée blanc grisâtre.)

Le lait n'est pas coagulé.

L'anaérobiose est très défavorable à ce bacille. A 37°, les réensemencements doivent se répéter tous les huit jours environ pour être fertiles.

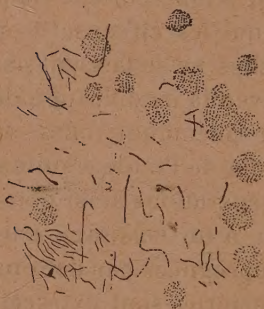


Fig. 1.

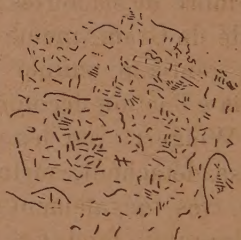


Fig. 2.

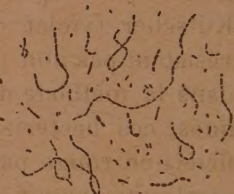


Fig. 3

L'examen microscopique des cultures, dans le bouillon peptonisé (fig. 3 Co=600), est très caractéristique: filaments immobiles, longs et sinueux, composés de chaînes de bâtonnets inégaux, soit cocco-bacillaires, soit formés de segments de 5 à 60 μ sur 0 μ ,40. Ces filaments discontinus ne sont pas ramifiés; sur leur parcours apparaissent, dans les vieilles cultures, des renflements en boule. On n'observe pas de formation de spores.

Les foyers suppuratifs, constatés à l'autopsie du surmulot, intéressent les plèvres et les poumons; il en est qui pénètrent dans le parenchyme pulmonaire à une profondeur de 2 à 3 millimètres; d'autres, exclusivement pleuraux, sont enkystés dans une coque fibreuse infiltrée d'ectasies sanguines, parfois décollée partiellement. Autour des abcès, le poumon est extrêmement congestionné et présente des lésions de broncho-

neumonie chronique et d'emphysème. Les parties abcédées sont formées d'exsudats coagulés, de détritns nucléaires, de bactéries; on n'y trouve pas de fibrine à l'état fibrillaire. Autour des abcès sont accumulés des leucocytes polynucléés, des cellules lymphocytoïdes, des Mastzellen en assez grand nombre, quelques cellules contenant des particules anthracosiques, des cellules conjonctives, de volumineux éléments soit mononucléés — avec un gros noyau muni d'un à trois nucléoles, situé au centre d'un protoplasma vésiculeux ou grossièrement aréolaire; — soit en voie de karyokinèse, soit déjà divisés, ces éléments dérivent de l'épithélium alvéolaire. Il n'existe, dans ces coupes, ni cellules éosinophiles, ni follicules tuberculeux. Dans les abcès et dans le tissu inflammatoire qui les circonscrit on voit un très grand nombre de bactéries; elles ne se laissent pas colorer par le procédé de Gram, même avec la modification de Kutscher (violet de gentiane aniliné et phéniqué); elles ne résistent pas non plus à l'action décolorante de l'huile d'aniline dans la méthode de Weigert: sur les préparations ainsi obtenues, ces bactéries se détachent, surtout à un éclairage artificiel, en rouge pâle, très inégalement imprégnées par l'éosine employée comme colorant de fond. Ces bactéries sont extracellulaires. Sur les coupes colorées par le bleu polychrome, par la thionine, par le bleu de méthylène-éosine-méthylal, elles apparaissent en violet ou en bleu pâle: ce sont des filaments streptobacillaires dont les segments ont des longueurs variables, tantôt ovoïdes ($0\mu,6$ à $0\mu,8$), tantôt en bâtonnets (2 à 12μ), tantôt résultant de la disposition bout à bout de ces divers types morphologiques. Ces filaments plus ou moins longs (10 à 40μ) décrivent des flexuosités, des coudures, s'intriquent en amas broussailleux, mais ils n'ont aucune tendance à former des colonies radiées et ils ne montrent pas d'expansions en massue.

Dans le courant du même mois, un autre surmulot de même provenance présentait une petite collection purulente analogue aux précédentes, émergeant de la surface du foie; tous les autres organes étaient indemnes.

Le microorganisme que nous avons isolé des lésions suppu-

ratives du surmulot fait manifestement partie du groupe actuellement bien connu des agents de la pseudo-tuberculose streptobacillaire, agents qui, bien que n'étant pas strictement réductibles à un seul et même parasite, sont morphologiquement et biologiquement très voisins. On trouvera dans les travaux d'ensemble de Hugo Preisz¹ et de Galli-Valerio² sur ce sujet, des essais de classification de ces micro-organismes qui ont été rencontrés chez l'homme, le cobaye, le lapin, le lièvre, la souris, le rat blanc, les bovidés, le mouton, le cheval, le porc, la poule, le pigeon, le chat, et dont le degré de virulence varie beaucoup avec les espèces animales qui les hébergent.

Le bacille extrait par nous des abcès de la pseudotuberculose du surmulot se rapproche de ceux que Kutscher et Bongert ont retiré de lésions similaires chez la souris. Le bacille isolé par Br. Galli-Valerio a fait l'objet d'une étude trop sommaire pour que nous puissions nous en occuper ici.

L'inoculation sous-cutanée à la souris blanche d'un bouillon de culture du bacille provenant du premier surmulot a déterminé une infection généralisée rapidement mortelle.

Le cobaye et le lapin ont résisté dans ces conditions ; ils n'ont eu qu'un empatement local et une adénite transitoires.

Par contre, deux surmulots adultes, inoculés par pulvérisation, ont succombé à une pseudotuberculose streptobacillaire généralisée. Voici la relation d'une de ces expériences :

Des cultures sur gélose à 37°, datant de 48 heures, émulsionnées dans de l'eau stérilisée, sont projetées tous les deux jours en pluie fine sur le museau d'un gros surmulot, tout à fait normal, isolé dans une cage.

Au bout de 26 jours, l'animal succombe : il porte depuis une semaine sur la partie antéro-latérale droite du thorax, en regard du sternum, un abcès sous-cutané du volume d'un haricot, rempli de pus compact de couleur blanc jaunâtre. Les deux plèvres sont enflammées et contiennent un exsudat séropurulent et hémorragique avec pseudomembranes tapissant le

1. H. PREISZ. Recherches comparatives sur les pseudotuberculosos bacillaires et une nouvelle espèce de pseudotuberculose (*Annales de l'Institut Pasteur*, 25 avril 1894).

2. GALLI-VALERIO, *Lcc. cit.*

diaphragme. Les deux poumons sont hépatisés. Le cœur est rétracté en systole. Une collection purulente relie le lobe gauche du foie à la paroi abdominale. Le foie est parsemé de saillies mamelonnées d'un blanc jaunâtre qui correspondent à autant d'abcès parenchymateux plus ou moins confluent. Le ligament gastro-hépatique est infiltré de pus. Autour de l'intestin grêle, immédiatement au-dessous du foie, se trouve un gâteau purulent faisant corps avec la paroi de l'intestin, sans ulcération marquée de la muqueuse. La rate volumineuse, de couleur chair musculaire, est criblée de petits abcès; elle est accolée à la paroi thoracique par l'intermédiaire d'un foyer purulent. Les ganglions mésentériques sont volumineux. Dans les reins on voit des stries purulentes, brunâtres, sous-capsulaires. Dans l'épididyme, du côté droit, se trouve un abcès de la grosseur d'une noisette. Sur le membre postérieur gauche, abcès pré tibial. Les centres nerveux sont indemnes ainsi que le cœur. A l'exploration de la cavité bucco-pharyngée et de l'estomac, pas de lésions ulcéreuses. Ces abcès ressemblent point par point à ceux que nous avons décrits plus haut; tous contiennent en grand nombre les micro-organismes filamenteux et streptobacillaires inoculés dont nous avons obtenu facilement des rétrocultures.

- Ce bacille, primitivement très virulent pour le surmulot, s'est ensuite progressivement atténué.

Comme le bacille de Kutscher et à l'encontre de celui de Bongert, le nôtre, dans le pus des abcès, était nettement filamenteux et beaucoup plus long que le bacille diphtéritique : légèrement effilé aux extrémités, il formait des chaînes intriquées, ne prenant pas le Gram et ne résistant pas à l'alcool absolu après action du violet de gentiane aniliné et phéniqué et de la solution de Lugol : le bacille de Kutscher restait coloré par ce dernier procédé. Le bacille isolé par Bongert, plus petit que le bacille diphtéritique, se présentait dans les lésions sous la forme d'un bâtonnet arrondi aux deux bouts.

Sur gélose, les colonies du bacille de Kutscher étaient profondément dentelées; il n'en était pas de même de celles du bacille de Bongert; dans nos cultures, les bords étaient onduleux. Ces bacilles se disposaient en longues chaînes immobiles dans le

bouillon qui, dans un cas, présentait un trouble granuleux, dans les autres, se revêtait d'un voile friable supportant des précipités phosphatiques. Le bacille de Bongert était anaérobie facultatif, les deux autres presque strictement aérobies.

La croissance sur pomme de terre tantôt nulle (Kutscher), ou presque (Sabrazès), était abondante avec le bacille de Bongert. Dans les vieilles cultures, tous ces bacilles se montraient granuleux, exceptionnellement avec corpuscules polaires colorables par le procédé de Ernst-Neisser (Bongert); ils présentaient parfois des renflements en boule ou en massue susceptibles de prendre le Gram (Bongert).

Aucun d'eux ne liquéfiait la gélatine, ne faisait fermenter la lactose, n'amenait la production d'indol.

Au point de vue de la virulence, le bacille de Kutscher, en émulsion concentrée, injecté sous la peau à la dose de 2 à 4 dixièmes de c. c., ne tuait qu'exceptionnellement la souris; très rarement, dans ces conditions, survenait une infection générale avec nodules purulents dans les poumons, les reins, la rate et le foie. L'ingestion des cultures restait sans effet. L'inhalation provoquait la mort de la souris grise domestique, avec production de foyers pulmonaires purulents, dans 20 0/0 des cas. La souris blanche était moins sensible. La souris des champs résistait toujours à ce mode d'inoculation. Dans le péritoine et dans le thorax, l'inoculation était toujours mortelle pour les diverses races de souris.

Le bacille de Bongert tuait toujours les souris par ingestion, produisant une ou plusieurs ulcérations le long du tube digestif d'où le bacille se propageait aux ganglions correspondants et aux viscères. Ce microbe s'éliminait du reste par les urines et par les matières fécales : des animaux sains placés dans les cages souillées par ces déjections contractaient la maladie et succombaient.

Les autres espèces animales inoculées par Kutscher — cobaye, lapin, chat, chien, poule — se montrèrent absolument réfractaires.

Bongert insiste sur la réceptivité très grande des souris blanches et grises; il n'a pu expérimenter sur la souris des champs. Par contre, l'inoculation échouait sur les rats, le cobaye, le lapin, le pigeon, le chien, le veau, la brebis, le cheval, le bœuf.

Les bacilles de Kutscher et de Bongert étaient donc exclusivement pathogènes pour la souris.

Notre bacille, virulent pour la souris et pour le surmulot, épargnait le cobaye et le lapin.

Ainsi les bacilles de Kutscher, de Bongert et le nôtre se comportaient de la même façon vis-à-vis des espèces animales autres que les muridés; par contre, ils tuaient la souris; le nôtre, provenant d'un surmulot, s'est montré virulent pour ce rongeur chez lequel il a provoqué une septico-pyohémie pseudo-tuberculeuse avec participation des plèvres, du foie, de la rate, des reins, des ganglions mésentériques, de l'épidyme, du tissu conjonctif sous-cutané. La parenté de ces micro-organismes cadre du reste très bien avec la similitude des lésions initiales d'où on les a isolés par la culture; ces lésions suppuratives intéressaient surtout l'appareil pleuro-pulmonaire.

DU ROLE DES IMMUNISINES (FIXATEURS)

DANS LA PHAGOCYTOSE

PAR LE PROF. J.-G. SAVTCHENKO

Lorsque Metchnikoff mit en avant la théorie de la phagocytose comme cause de l'immunité, les particularités et l'origine de ce phénomène n'étaient pas encore expliquées, bien que sa réalité n'eût soulevé aucun doute dans la pensée de ce savant ni dans celle de ses élèves. Alors, il n'y avait pas assez de données qui permissent de pénétrer plus au fond de la question.

La notion de la sensibilité du protoplasma vis-à-vis des substances chimiques, apportée dans la science par Pfeffer, a montré, entre autres choses, dans quelle direction il faut chercher les causes de la phagocytose : le phagocyte devient actif lorsqu'il est sensible à l'action des substances contenues dans l'organisme phagocyté.

Il ne faut pas oublier que si l'on a généralisé la participation de la chimiotaxie des leucocytes à tous les phénomènes de la phagocytose, c'était par analogie avec tous les cas bien étudiés de sensibilité des cellules, et en particulier des leucocytes à l'égard de certaines solutions. C'est pourquoi il ne serait pas impossible de supposer que les phagocytes sont parfois guidés par d'autres genres de sensibilité du protoplasma.

Il y a peu de temps, avant la découverte des sérums curatifs et spécifiques, le savant, quelle que fût sa manière d'envisager cette question, se comportait dans la solution de ce problème en observateur et non pas en expérimentateur, car il lui était impossible de modifier le phénomène par sa propre intervention.

La découverte des sérums antimicrobiens a donné une nouvelle impulsion à l'étude de cette question, en montrant la possibilité pour l'expérimentateur de conférer l'immunité à l'animal déjà malade.

L'école de Metchnikoff ayant démontré que le mécanisme de l'immunité se ramène au phénomène de la phagocytose, il était naturel de se demander pourquoi les phagocytes présentant la chimiotaxie négative à l'égard d'un microbe pathogène montrent

tout à coup la chimiotaxie positive et englobent ce microbe, aussitôt qu'on introduit dans l'organisme de cet animal, avec le sérum curatif, une certaine substance chimique.

Deux agents prennent part à ce phénomène : le phagocyte et le microbe pathogène.

Le phagocyte ne saisit pas le microbe qui s'est développé dans le corps d'un animal non immunisé. Si chez ce même animal, mais ayant reçu du sérum curatif, le même microbe est dévoré par les phagocytes, il s'est produit, évidemment, une modification quelconque, au moins dans l'un des deux facteurs prenant part à ce phénomène. Ce changement a lieu dans le leucocyte ou bien dans le microbe.

Les partisans de la théorie humorale de l'immunité tendaient, depuis le travail de Pfeffer sur les vibrions cholériques, à ramener l'effet des sérums curatifs à l'action directe de ces sérums sur les microbes.

L'ancienne théorie des humoralistes (Flügge, Behring, Buchner) sur l'action microbicide du sérum dans l'organisme a influencé l'interprétation de nouveaux faits apportés par Pfeffer et ses collaborateurs.

On a même essayé de démontrer l'action atténuante des sérums : les microbes, tout en continuant à vivre dans l'organisme immunisé, deviendraient moins virulents (Charrin et Roger).

D'un autre côté, Metchnikoff et ses élèves, par toute une série de recherches, ont montré que la mort extracellulaire des microbes, chez les animaux auxquels on a injecté des sérums spécifiques, a lieu seulement dans des cas exceptionnels, comme, par exemple, dans la cavité abdominale, et que le phagocyte reste toujours le facteur général de l'immunité.

Non seulement il a été impossible de démontrer l'action directe et destructive du sérum à l'égard des microbes, mais il a été constaté que les microbes ne perdent pas de leur virulence introduits dans l'organisme immunisé. Étant extraits de l'organisme de ce dernier pour être introduits chez un animal neuf, ils amenaient sa mort, comme c'est le cas du streptocoque et de la bactériémie du charbon. D'où il a fallu conclure que le microbe reste le même et que ce sont les propriétés des leucocytes qui changent : leur chimiotaxie, de négative, devient positive. Les

substances immunisantes, comme formulait Metchnikoff, *servaient de stimulines* pour les leucocytes.

Cependant, toutes les expériences sur lesquelles est basée la conclusion formulée plus haut montrent seulement que dans l'organisme animal la substance immunisante ne peut influencer le microbe au point de le modifier, lui et ses générations, même après qu'on l'a soustrait à l'action des immunisines. C'est pourquoi ces expériences n'excluent nullement la possibilité d'expliquer ce phénomène (la phagocytose déterminant la guérison) par l'action directe du sérum sur les microbes.

En effet, la grande majorité des microbes pathogènes à l'état saprophyte, de même que quelques-uns dans leur forme pathogène (comme les bacilles de la tuberculose, de la lèpre, du rouget du porc) provoquent la chimiotaxie positive des leucocytes. Et on peut dire que tous les microbes, sans exception, même les formes très pathogènes, peuvent être phagocytés, lorsqu'ils sont tués par le chauffage. Il est évident que les corps microbiens eux-mêmes (et surtout, semble-t-il, leur substance nucléaire) provoquent la chimiotaxie positive des leucocytes; cette propriété fondamentale des leucocytes peut être considérée comme le résultat de l'accommodation du monde animal vis-à-vis des microbes.

Parmi les microbes, ceux-là seulement ne sont pas phagocytés qui ont acquis les propriétés spécifiques dans le corps de l'animal. Si on veut un exemple, n'importe quel microbe de septicémie (la bactériémie, le streptocoque, le staphylocoque, etc.) cultivé en dehors de l'organisme comme saprophyte et mis en contact avec des phagocytes, dans la cavité abdominale d'un animal, est d'abord englobé par ces derniers. Ce n'est qu'un peu plus tard qu'apparaissent des formes microbiennes dont le nombre devient prédominant et qui ne sont pas touchées par les phagocytes.

Il s'ensuit que le microbe, en outre des substances qu'il possède à l'état saprophyte, a acquis dans l'intérieur de l'organisme quelque chose de plus, qui provoque la chimiotaxie négative du leucocyte. Cette nouvelle propriété, basée sur la remarquable accommodation des microbes, les rend pathogènes, capables de causer l'infection générale de l'organisme¹.

1. Il s'agit ici seulement de formes infectieuses aiguës. Dans les infections

Il est tout à fait naturel d'expliquer la chimiotaxie négative des leucocytes par l'hypothèse que le microbe secrète une substance qui se condense surtout sur sa surface et le défend des leucocytes.

En faveur de cette hypothèse parlent l'action éminemment toxique de tels microbes sur les tissus environnants, ainsi que les modifications morphologiques des membranes, qu'on trouve d'une façon nette pour la bactériémie du charbon, pour les levures pathogènes et même pour le streptocoque. Il est bien possible que dans quelques cas il ne s'agisse que d'un état physique spécial de la surface du microbe, état qui le rend inaccessible au phagocyte.

Puisqu'on peut considérer, grâce aux expériences de Buchner et surtout à celles de Bordet, comme un fait bien établi que les « anticorps » (substance immunisante) des sérums ont une affinité spéciale pour les microbes correspondants et se fixent fortement sur leur surface, l'action des sérums peut être expliquée par la suppression de la propriété nouvelle du microbe que ce dernier a acquise dans l'organisme et grâce à laquelle il a été défendu contre les phagocytes, et que cette propriété soit due à une substance chimique spéciale ou bien à un état physique particulier de sa surface. L'action du sérum transforme alors le microbe pathogène en saprophyte facilement phagocyté par des leucocytes. On peut d'autant plus admettre ce mode d'action des immunisines (fixateurs) que d'après les recherches de Metalnikoff¹, les fixateurs peuvent être dissous dans le plasma et qu'ils passent du système circulatoire dans la lymphe qui lave les cellules et les rend accessibles à l'action des microbes quel que soit le siège de ces derniers.

Comme l'action de la substance immunisante (fixateur) ne se manifeste que par la neutralisation des propriétés spécifiques des microbes pathogènes, propriétés localisées à leur surface, il est bien entendu que les microbes soustraits de nouveau à l'action des substances immunisantes et mis dans les conditions antérieures, — si on les inocule à un autre organisme sensible — vont acquérir eux-mêmes ainsi que leurs générations chroniques, comme la tuberculose, la lèpre, le rhinosclérome, l'infection est déterminée non pas par l'absence de la phagocytose, — cette dernière, au contraire, y est très intense, — mais bien par la résistance des microbes vis-à-vis des ferments digestifs des phagocytes.

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1900.

successives, la propriété de donner une infection mortelle, puisqu'ils ne seront pas phagocytés par des leucocytes.

C'est pourquoi il est évident que toutes les expériences qui démontrent que les microbes ne perdent pas pour toujours leur toxicité dans l'organisme immunisé, c'est-à-dire leur propriété de causer l'infection mortelle d'un autre animal, ne réfutent nullement l'hypothèse émise plus haut sur l'action des sérums.

A ce point de vue on peut expliquer facilement les expériences de Bordet sur l'infection streptococcique des animaux immunisés et traités avec le sérum. Cette manière de voir est d'ailleurs indiquée en partie par l'auteur, qui cependant ne l'érige pas en théorie¹.

On peut très facilement expliquer quelques faits touchant à l'immunité vis-à-vis du charbon² par l'action antitoxique du sérum à l'égard du poison spécial sécrété à la surface du microbe.

Il est vrai que, si d'une part il n'existe pas d'expériences réfutant notre hypothèse sur la possibilité de l'action directe des substances immunisantes sur les microbes, dans le sens indiqué plus haut, il serait excessivement difficile, d'autre part, de le démontrer par des expériences directes.

Rappelons-nous qu'à ce phénomène prennent part deux agents vivants et capables de modifier leurs fonctions : leucocyte et microbe, et que nous devons trouver lequel des deux devient modifiable sous l'influence du troisième agent constant, de la substance immunisante.

Le microbe est un objet très incommode pour la solution de ce problème. Comme être vivant, qui se multiplie très rapidement, il change si vivement ses propriétés qu'il n'est jamais possible à l'expérimentateur de s'assurer s'il a affaire dans son expérience au même microbe qui a été soumis à l'action des substances immunisantes, — que cela ait lieu dans l'organisme de l'animal immunisé ou bien en dehors de l'organisme, *in vitro*, — ou bien s'il a affaire à ses descendants qui ont déjà perdu toutes les propriétés qui leur ont été conférées par l'expérience. Le microbe est un élément changeant; c'est pourquoi il était impossible de conclure avec une entière certitude sur les modi-

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1897.

2. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1897. *Archives russes de pathologie*, 1897.

fications des propriétés de l'autre agent de l'expérience, du leucocyte.

La doctrine des sérums immunisants, élargie par les expériences de Bordet, Metchnikoff et Ehrlich, avec la découverte des cytotoxines pour n'importe quelle cellule, permet actuellement de simplifier d'une façon notable les recherches sur le rôle des substances immunisantes spécifiques dans le phénomène de la phagocytose. Étant donné qu'il existe une analogie complète entre les lois qui régissent l'action des cytotoxines, et les lois de l'action des substances immunisantes sur les microbes, il est possible et tout à fait légitime d'opérer dans les expériences sur la phagocytose, non pas avec un élément changeant, — microbe, — mais avec une sorte de cellule animale, et il est plus facile d'opérer avec le globule rouge.

II

Comme l'a montré, le premier, Bordet¹, en introduisant les globules rouges de l'animal A dans l'organisme de l'animal B, on rend le sérum de ce dernier toxique pour les globules rouges de A. L'auteur a établi une analogie complète entre l'action *in vitro* de ce sérum sur les globules rouges et l'action des sérums immunisants spécifiques sur les microbes.

Dans le sérum spécifique se trouve une substance ou fixateur (d'après la terminologie de Metchnikoff) qui se fixe sur les globules rouges correspondants — ou bien sur les microbes — et par son action prépare ces derniers à leur dissolution par les alexines (cytases) qu'on trouve dans chaque sérum. Le fixateur ne se détruit pas à 55°-60°, la cytase cesse d'être active après le chauffage d'une demi-heure à 55°.

Ehrlich et Morgenroth² ont montré que le fixateur a une affinité spécifique pour les globules rouges correspondants, et qu'une fois fixé sur eux, il ne s'en détache pas dans les lavages ultérieurs, ainsi que dans la centrifugation dans l'eau physiologique. Si l'on soumet les globules rouges ainsi traités à l'action du sérum normal contenant des alexines (cytases), ils se dissolvent.

Il est facile de se convaincre que les globules rouges d'un

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1898.

2. *Berl. Klin. Woch.*, 1899, n° 1.

animal introduits dans la cavité péritonéale d'un autre animal de même espèce — même après provocation artificielle de la leucocytose dans cette cavité péritonéale — restent pendant plusieurs jours sans être englobés par des leucocytes, bien qu'ils soient en contact intime avec ces derniers.

Ce fait est si constant qu'il est impossible d'obtenir l'englobement des globules rouges, sans les avoir modifiés d'une façon spéciale. Les leucocytes sont aussi indifférents aux globules rouges lavés dans l'eau physiologique, centrifugés et conservés dans la glacière de 6 à 8 jours, qu'aux globules rouges qu'on vient d'extraire du vaisseau. Les leucocytes montrent la chimiotaxie négative à l'égard de leurs globules rouges. Il n'en pourrait pas être autrement, car, dans le cas contraire, ils dévoreraient leurs voisins rouges, dans l'intérieur même des vaisseaux sanguins¹. Nous possédons donc dans les globules rouges un remarquable objet d'une forte chimiotaxie négative.

Si les sérums hémolytiques présentent une analogie complète avec les sérums bactériolytiques, il faut s'attendre à ce qu'en présence du sérum spécifique pour les globules rouges donnés, la chimiotaxie négative naturelle des leucocytes devienne positive et qu'ils commencent à englober les globules rouges de cette même espèce et même leurs propres globules rouges.

Prenons comme objets de notre expérience les phagocytes du cobaye, ses globules rouges et le sérum de lapin immunisé contre les globules rouges de cobaye, et chauffons préalablement le sérum à 55° pour détruire ses alexines, en laissant intacte le fixateur spécifique².

Après avoir provoqué, 24 heures avant l'expérience, la leu-

1. Il est incontestable que dans quelques cas il existe une perversion de cet état normal et que les phagocytes dévorent leurs propres globules rouges. J'ai pu constater il y a quelques années, d'une façon très nette, la phagocytose des globules rouges par les macrophages (dans les vaisseaux du foie) dans un cas de leucémie aigus, à issue fatale, et compliquée de purpura hémorragique. On observe une phagocytose très marquée des globules rouges dans le corps thyroïde, dans le goitre exophtalmique, et cela aussi bien au niveau des endothéliums vasculaires, que dans les espaces périvasculaires. Il est probable que dans la maladie d'Addison le processus a lieu dans les espaces périvasculaires.

2. Nos expériences ont porté principalement sur des cobayes et des lapins. En immunisant des lapins contre les globules rouges de cobaye, ainsi que les cobayes vis-à-vis des globules rouges de lapin, nous avions une réserve de sérum hémolytique de ces deux espèces de globules rouges.

La plupart des expériences ont été pratiquées avec le sérum de lapin hémolytique pour les globules rouges de cobaye. C'est pourquoi nous ne parlons dans notre exposé ultérieur que des expériences faites sur les cobayes.

cocytose dans la cavité péritonéale des cobayes A et B par l'injection de 3 c. c. de bouillon, on y introduit des globules rouges de cobaye débarrassés de leur sérum par le lavage. L'étude de l'exsudat péritonéal cueilli 4 heures après le commencement de l'expérience montre l'absence de toute phagocytose. Introduisons maintenant dans la cavité péritonéale du cobaye A de 1/10 à 1/4 de c. c. (selon son pouvoir toxique) de notre sérum. Nous gardons le cobaye B comme témoin. Une heure après nous pouvons déjà observer la phagocytose des globules rouges chez le cobaye A. Au bout de 4 heures ce phénomène est très marqué : les globules rouges sont englobés non seulement par des mononucléaires qui en sont farcis, mais aussi par des polynucléaires, lesquels à l'état normal sont très peu actifs même à l'égard des globules rouges d'espèce différente. Ce phénomène se poursuit les jours suivants jusqu'à résorption complète des globules rouges dans la cavité péritonéale.

Chez le témoin B, les globules rouges restent intacts même les jours suivants; ils disparaissent de la cavité abdominale, évidemment, en passant dans les vaisseaux lymphatiques.

Si on introduit dans la cavité péritonéale du cobaye neuf des globules rouges en même temps que du fixateur (avec le sérum privé de ses alexines), alors les globules rouges, suivant la quantité introduite, seront complètement dissous, ou bien une partie seulement de ces globules rouges sera dissoute et le reste deviendra la proie des phagocytes.

Ces expériences sont absolument analogues aux expériences classiques avec les microbes (par exemple avec le vibrion cholérique), elles montrent que l'intervention du fixateur spécifique détermine le phénomène de phagocytose des éléments comme les globules rouges qui normalement ne sont pas englobés par les leucocytes de leur espèce.

Mais dans cette expérience ainsi posée, nous ne savons pas si la phagocytose a agi sur les globules rouges ou bien sur les leucocytes.

En modifiant cette expérience, tâchons d'élucider deux questions posées par nous plus haut :

1) Si le fixateur agit directement sur les globules rouges et les modifie au point de les rendre accessibles aux phagocytes normaux.

2) Ou bien si l'action de la phagocytose s'exerce sur les leuco-

cytes dont le protoplasma manifeste, sous l'influence de cette action, la chimiotaxie positive vis-à-vis des globules rouges normaux.

III

La phagocytose aurait-elle lieu si on ajoutait des leucocytes aux globules rouges préalablement traités par le fixateur?

Après avoir défibriné le sang de cobaye, lavons les globules rouges, en les centrifugeant dans l'eau physiologique, pour les débarrasser de leur sérum et des alexines qui se trouvent dans ce dernier. On dilue le dépôt ainsi obtenu dans une quantité d'eau physiologique suffisante pour faire quatre fois le volume de sang préalablement pris, et on ajoute en excès¹ du sérum hémolytique, chauffé à 55° pendant une demi-heure, c'est-à-dire privé de ses alexines.

On laisse le tout déposer à la température de la chambre pendant une demi-heure. Après avoir centrifugé et bien agité le dépôt agglutiné dans une quantité aussi grande que possible d'eau physiologique, on centrifuge de nouveau, et on répète la même opération 2-3 fois. Il est impossible de retrouver le sérum hémolytique dans l'eau physiologique après ces lavages. Après avoir agité avec soin le dernier dépôt dilué dans une quantité d'eau physiologique, égale aux 4 volumes du sang primitif, nous obtenons des globules rouges ayant subi l'action du fixateur qui ne se trouve plus ici à l'état libre.

Injectons, comme dans l'expérience précédente, 1/2 c. c. de ce mélange aux cobayes : au cobaye A (dans la cavité péritonéale duquel on a injecté, 24 heures avant l'expérience, du bouillon) et au cobaye témoin B. Chez le cobaye A, on constatera rapidement une phagocytose énergique des globules rouges ; chez le cobaye B, la dissolution extracellulaire de la plupart d'entre eux et une phagocytose successive des globules non dissous.

On réussit la même expérience lorsque, au lieu de procéder dans l'organisme animal, on opère *in vitro* et dans l'étuve. Après avoir dilué, avec de l'eau physiologique, l'exsudat contenu dans

1. Nous ajoutons 1 c. c. de sérum à toute la quantité du sang (400 grammes) ; 1/4 de c. c. de ce sérum, introduit dans la cavité péritonéale du cobaye, tuait cet animal au bout de 2 jours, en donnant lieu à des phénomènes d'hémolyse.

la cavité péritonéale du cobaye qu'on vient de sacrifier, et chez lequel on avait provoqué la leucocytose, nous y ajoutons des globules rouges traités de la façon indiquée plus haut, l'effet est le même : c'est-à-dire phagocytose des globules rouges par des leucocytes. On peut suivre d'une façon nette le processus même de phagocytose sous le microscope, dans une goutte suspendue placée dans une chambre chaude à 37°.

Dans les expériences parallèles faites aussi bien *in vitro* que *in vivo*, avec des globules rouges normaux, on constate l'absence de phagocytose.

Dans l'expérience précédente, nous traitions les globules rouges avec l'excès de sérum, et nous avons remarqué le phénomène d'agglutination bien net. On peut admettre la modification de la structure physique des globules rouges due aux dilutions et aux centrifugations répétées. Mais pour obtenir le même effet, il n'est pas nécessaire d'avoir une grande quantité de sérum.

Après avoir traité les globules rouges comme dans l'expérience précédente, et après les avoir dilués dans la même proportion d'eau physiologique, nous y ajoutons la quantité de sérum hémolytique chauffé à 55° suffisante pour faire une solution de 1/200¹, cette dilution ne montrait aucune trace d'agglutination après 6 heures de séjour dans l'étuve.

Après la centrifugation et le triple lavage du dépôt (pour ce faire on le dilue avec 20 fois son volume d'eau), nous obtenons des globules rouges qui ne s'agglutinent nullement. Ces derniers ont cependant attiré le fixateur, puisqu'il suffisait de les additionner de sérum normal pour amener la dissolution de leur hémoglobine.

Les expériences pratiquées avec cette quantité de globules rouges, aussi bien *in vitro* que *in vivo* (dans la cavité péritonéale du cobaye injecté préalablement avec du bouillon), ont donné les mêmes résultats ; la phagocytose des globules rouges apparaissait d'une façon aussi nette et aussi rapide.

Dans les expériences mentionnées plus haut, les leucocytes ne subissaient aucune action directe du fixateur, et si la

1. Cette quantité de sérum, dans sa dilution au 1/200, exerçait une action hémolytique marquée, au cas où il n'était pas privé, par le chauffage, de ses alexines.

phagocytose était plus intense que normalement, ce fait était évidemment déterminé par des modifications survenues dans les globules rouges ayant subi l'action du fixateur.

Étant donné que la même loi régit l'action du fixateur sur les cellules animales et sur les microbes, on peut admettre que la réaction phagocytaire, qui détermine l'immunité vis-à-vis du microbe, peut être due à l'action directe du fixateur (substance immunisante) sur le microbe.

IV

Ce mode d'action du fixateur est-il toujours obligatoire ? Cette action ne pourrait-elle pas provoquer la phagocytose en agissant directement sur les leucocytes.

Dans notre étude de l'immunité vis-à-vis de la fièvre récurrente, nous avons exécuté une série d'expériences qui montrent que les leucocytes peuvent englober des substances immunisantes spécifiques et, grâce à cela, modifier leur sensibilité à l'égard des spirochètes ¹.

On peut obtenir des résultats plus démonstratifs en expérimentant avec des globules rouges.

Après avoir provoqué la leucocytose dans la cavité péritonéale des cobayes A et B, introduisons, le lendemain, dans la cavité péritonéale du cobaye A la quantité de sérum hémolytique, un peu inférieure à la dose mortelle pour un animal d'un poids donné ².

Douze heures après, nous injectons dans la cavité péritonéale du cobaye A (qui a reçu du sérum) et dans celle du cobaye témoin B des globules rouges de cobaye débarrassés de sérum. Déjà, au bout de quelques minutes, on constate une phagocytose très marquée chez le cobaye A. Une heure après, tous les mononucléaires sont gorgés de globules rouges; on trouve aussi des polynucléaires ayant saisi des globules rouges. Chez le cobaye B, comme toujours, la phagocytose manque complètement, ou

1. *Archives russes de pathologie*, 1900.

2. Nous déterminions chaque fois pour ces expériences la dose mortelle minima pour l'injection de sérum dans la cavité abdominale. Cette dose est 3 ou 4 fois plus petite que dans le cas d'injection sous-cutanée. Selon le degré d'immunisation du lapin, nous utilisons le sérum mortel en injection intra-abdominale pour une dose de $1/4$ à $1/10$ de c. c.

bien on trouve, comme une rare exception, quelques globules rouges dans l'intérieur des mononucléaires.

Mais il se pourrait que dans cette expérience, les globules rouges aient subi l'action du fixateur qui se trouve dans le plasma. Cette hypothèse vient d'autant plus à l'esprit que les agglutinines s'y trouvent incontestablement; les globules rouges ont tendance à se mettre en amas.

Les globules rouges modifiés par la phagocytase doivent être très sensibles à l'action des alexines du sérum.

C'est pourquoi, dans une autre expérience, on a introduit, chez l'animal préparé de la même façon, des globules rouges non lavés, mais suspendus dans le sérum en excès de l'animal dont on a pris des globules rouges. Pour cela, après avoir centrifugé le sang, on séparait les globules rouges du sérum, et on les additionnait d'un sérum pur jusqu'à coloration rouge clair.

Après avoir injecté 1, 2 c. c. d'un tel mélange dans la cavité péritonéale d'un cobaye traité préalablement par le fixateur, nous n'avons pas constaté de dissolution des globules rouges dans les préparations de l'exsudat péritonéal, mais seulement la phagocytose, comme dans la première expérience. Et cependant nous y avons introduit avec du sérum des alexines en excès.

Mais peut-être les alexines sont-elles résorbées par les cellules avant que la petite quantité de fixateur libre, suivant notre hypothèse, ait pu agir sur les globules rouges.

Pour supprimer cette possibilité, nous avons procédé de la façon suivante dans une autre série d'expériences.

On introduisait, dans la cavité péritonéale du cobaye, 3 c. c. de bouillon, 24 heures avant l'expérience. On provoquait ainsi la leucocytose dans la cavité péritonéale, et on rendait, croyons-nous, les leucocytes plus sensibles pour les globules rouges. Le lendemain, on introduisait dans la cavité péritonéale 1/4 de c. c. de globules rouges lavés et additionnés d'eau physiologique jusqu'au volume primitif du sang. Une heure après, on observait déjà la phagocytose des globules rouges.

Si la phagocytose dépendait de l'adhérence du fixateur aux globules rouges, ces derniers doivent être dissous par des alexines.

Introduisons, maintenant que la réaction phagocytaire a commencé, dans la cavité péritonéale du même cobaye, 1 c. c.

de sérum pris antérieurement chez un autre cobaye et chauffé à 37°¹. L'examen répété de l'exsudat péritonéal dans l'intervalle des 2 heures qui ont suivi, n'a pas montré de dissolution des globules rouges,

On pouvait constater aussi *in vitro* cette dissolution des globules rouges, si dans cette expérience, au moment où commençait la phagocytose, on mélangeait dans une chambre humide une goutte d'exsudat péritonéal avec du sérum normal, c'est-à-dire avec des alexines en liberté. *Aussi les globules rouges peuvent-ils être phagocytés sans avoir de fixateur sur leur surface.*

Toutes ces expériences montrent qu'en présence des leucocytes dans la cavité péritonéale, il est impossible d'y déceler l'existence d'un fixateur à l'état libre, même si l'on y en avait introduit quelques heures avant l'expérience. Le fixateur est, évidemment, absorbé par des leucocytes, ce qui détermine le changement de leur sensibilité.

Mais on peut faire encore une objection : il n'est peut-être pas nécessaire, pour provoquer le phénomène de phagocytose, d'avoir une quantité de fixateur assez considérable pour dissoudre les globules rouges en présence des alexines. Il est possible qu'il existe dans le plasma un minimum de fixateur, insuffisant pour être décelé par la réaction de dissolution, mais tout à fait suffisant pour provoquer la phagocytose après s'être fixé sur ces derniers.

Pour supprimer tout fixateur qui pourrait se trouver à l'état libre en dehors des leucocytes, on n'avait qu'à faire l'expérience *in vitro* après avoir lavé dans l'eau physiologique des leucocytes qui ont absorbé le fixateur, d'après notre hypothèse.

Nous injections dans la cavité péritonéale du cobaye le mélange de 3 c. c. de bouillon et de sérum². Le lendemain on y introduisait 2 c. c. d'eau physiologique chauffée à 37° pour diluer l'épais exsudat leucocytaire. Immédiatement après, on saignait le cobaye à blanc, on défibrinait le sang et on lavait les globules rouges pour les débarrasser du sérum. On poursuivait l'expérience en les divisant en 3 parties, comme il suit :

1. Il n'est pas inutile de prendre cette précaution, quand on fait des injections dans la cavité abdominale, car une oscillation brusque de température peut provoquer une désagrégation partielle des phagocytes et le passage dans le plasma des substances contenues dans leur intérieur.

2. Dans ces expériences, aussi bien que dans les autres, on injectait au cobaye une dose inférieure à la dose mortelle minima.

I. La cavité péritonéale immédiatement ouverte, on aspirait dans une pipette, contenant de l'eau physiologique chauffée à 37°, de l'exsudat péritonéal. On séparait par la centrifugation les leucocytes suspendus dans l'eau physiologique. On ajoutait de nouveau à ces leucocytes 40 c. c. d'eau physiologique et, après avoir agité avec soin le mélange, on centrifugeait encore une fois. Cette manipulation, assez grossière il est vrai, fait périr beaucoup de leucocytes, ce sont surtout les mononucléaires qui succombent. Mais les leucocytes et surtout les polynucléaires, qui se sont déposés au fond du tube à essai, se sont bien conservés. Après avoir décanté la couche de liquide qui se trouve au-dessus d'eux (ce qui n'est pas difficile à faire, car les leucocytes adhèrent en masse compacte au fond du tube), on agitait les leucocytes qui restaient avec 1 c. c. d'eau physiologique. On versait quelques gouttes de leucocytes en suspension dans l'eau physiologique à 0,7 0/0 et on y ajoutait 1 goutte de globules rouges de cobaye neuf, débarrassés du sérum et lavés dans l'eau physiologique. On plaçait le mélange à l'étuve.

II. On ajoutait aux leucocytes lavés, restés après cette expérience, 1/2 c. c. de sang de lapin neuf pour obtenir le caillot, la désagrégation des leucocytes du cobaye et le passage dans le sérum des substances contenues dans les leucocytes. On laissait le mélange pendant 2 jours à la glacière, après quoi on obtenait, après centrifugation, le sérum tout à fait transparent et non teinté par l'hémoglobine. On ajoutait à ce sérum, ainsi qu'à la même quantité de sérum normal de cobaye, la même quantité de globules rouges de cobaye, pour pouvoir juger par les degrés de dissolution des globules rouges si le fixateur a été absorbé par les leucocytes de notre cobaye.

III. On introduisait des globules rouges lavés de notre cobaye dans la cavité péritonéale du cobaye neuf (chez qui on avait provoqué préalablement la leucocytose par l'injection du bouillon); ainsi on pouvait, selon qu'il avait phagocytose ou non des globules rouges, juger de la présence ou de l'absence du fixateur sur les globules rouges de notre cobaye qui avait reçu du sérum hémolytique dans sa cavité péritonéale.

Les résultats de cette expérience ont été les suivants :

1. *Les leucocytes débarrassés du plasma mais immunisés par le fixateur englobaient in vitro des globules rouges normaux de cobaye;*

2. Le sérum obtenu par le mélange de sang de lapin et de leucocytes de notre cobaye, dissolvait les globules rouges faiblement, mais d'une façon beaucoup plus marquée que le sérum témoin de lapin ;

3. Les leucocytes normaux de cobaye ne phagocytaient qu'un nombre insignifiant de globules rouges de notre cobaye. Quant aux globules rouges restés non englobés, les leucocytes montraient le lendemain à leur égard la même indifférence qu'ils manifesteraient si on les mettait en présence du sang de cobaye neuf.

En résumant les expériences indiquées dans les chapitres III et IV, nous arrivons à cette conclusion que le fixateur peut déterminer la phagocytose des éléments qui ne sont pas phagocytés à l'état normal, et cela de deux façons :

1. Il peut se fixer sur son objet spécifique (dans notre cas, sur le globule rouge) et le modifier à tel point que le phagocyte change à son égard sa chimiotaxie négative en chimiotaxie positive ;

2. Le fixateur peut être absorbé par le protoplasma des phagocytes. Ces derniers, chargés du fixateur, acquièrent la chimiotaxie positive vis-à-vis de la substance sensible au fixateur, dans notre cas le globule rouge, bien que celui-ci ne soit pas modifié par le fixateur : la base de la fonction physiologique de la phagocytose réside dans une affinité chimique.

V

Après avoir étudié l'action du fixateur d'une part sur les phagocytes de l'animal en expérience, d'autre part sur les globules rouges qu'on introduisait dans l'animal, voyons maintenant ce que deviennent les globules rouges de l'animal quand on lui injecte des hémotoxines.

Les expériences de Bordet ¹ ont déjà montré que les animaux périssent plus ou moins vite, suivant la dose injectée. Dans ce cas survient l'hémolyse des globules rouges dans les vaisseaux sanguins et l'hémoglobine apparaît dans l'urine.

Cantacuzène ² a montré que chez des animaux, injectés avec des doses non mortelles d'hémotoxine, on observe, à la suite de ces injections, une diminution plus ou moins marquée des globules rouges.

1. L. c.

2. Annales de l'Institut Pasteur, 1900, n° 3.

On observe chez l'homme la même diminution des globules rouges, immédiatement après l'injection de doses relativement petites de sérum hémolytique, comme cela résulte du travail de MM. Metchnikoff et Bezredka¹.

Cet effet est tout à fait compréhensible, si on injecte une grande quantité de sérum hémolytique non chauffé, c'est-à-dire contenant des alexines : la dissolution des globules rouges survient alors comme *in vitro*, et si l'animal vit quelque temps, l'hémoglobine passe dans l'urine.

Mais si une diminution notable des globules rouges suit l'injection de doses faibles et même, comme il est facile de s'en convaincre, l'injection de sérum chauffé, privé de sa cytase, on a peine à croire que cette baisse du taux des globules rouges soit due simplement à leur dissolution. Personne n'a indiqué l'existence de l'hémoglobinurie dans ce cas. D'après nos expériences, cette dernière n'existe pas.

On peut s'attendre, d'après l'analyse des expériences indiquées dans les chapitres II, III et IV, à ce que le fixateur introduit dans l'organisme de l'animal, pour les globules rouges duquel il est spécifique, modifie ces globules de telle façon qu'ils se comportent vis-à-vis des leucocytes comme des corps étrangers de l'organisme. C'est aussi ce que l'on observe, par exemple, pour les bactéries, lorsque dans un organisme malade intervient l'immunité à l'égard de ce microbe, que cette immunité soit naturelle ou qu'elle soit acquise à la suite de notre intervention.

L'étude détaillée des phénomènes qu'on observe dans l'organisme intoxiqué par l'hémotoxine est poursuivie actuellement dans notre laboratoire.

Je ne mentionnerai dans ce chapitre que les faits qui se rapportent directement au sujet de notre mémoire et offrent, par leur analogie avec des maladies infectieuses, une signification générale pour la doctrine de l'immunité.

Déjà, les modifications microscopiques qu'on trouve dans les organes à la suite des injections de différentes doses d'hémotoxine montrent que le mécanisme de leur action n'est probablement pas toujours le même.

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1900, n° 3, p. 408.

I. *Grandes doses.* — Si l'animal périt 1 ou 2 jours¹ après l'injection sous-cutanée du sérum hémolytique non chauffé, on fait les constatations suivantes à son autopsie :

Le sang est non seulement pauvre en globules rouges, mais il se trouve en petite quantité dans les vaisseaux, même d'après l'examen à l'œil nu. On observe une anémie très marquée.

Le foie présente une couleur brune. La rate a la même couleur, parfois même elle est d'un brun noir ; rarement elle est hypertrophiée, on constate parfois la diminution de son volume, surtout chez des lapins traités par le sérum hémolytique.

Les reins, surtout les pyramides, sont infiltrés de pigment sanguin. L'urine est colorée d'une façon intense par le pigment sanguin, mais ne contient pas d'éléments figurés du sang.

Les globules rouges qui se trouvent dans les vaisseaux eux-mêmes sont modifiés dans leurs dimensions et leurs formes (microcytes, macrocytes et poikilocytes) ; beaucoup d'entre eux sont dans le stade de dissolution d'hémoglobine.

Il est évident qu'il s'agit ici d'une hémolyse active telle qu'on la constate *in vitro*.

II. Si l'animal meurt plus lentement, avec des doses moindres de sérum ou à la suite d'inoculation de sérum chauffé, ne renfermant que le fixateur, au 5^e, 7^e ou 8^e jour après l'injection, on trouve encore assez souvent une quantité considérable de sang dans les vaisseaux, bien que beaucoup de globules rouges montrent des modifications caractéristiques. La rate présente un volume tantôt normal, tantôt elle est hypertrophiée, quoique d'un brun foncé, comme dans le premier cas. Le foie est aussi parfois hypertrophié. Les pyramides du rein sont infiltrées de pigment ; l'urine renferme de l'hémoglobine. Les muqueuses, le tissu sous-cutané et les séreuses présentent la teinte ictérique. Le muscle cardiaque est friable, en partie en dégénérescence granuleuse, en partie en dégénérescence grasseuse.

Si on sacrifie quelques-uns de ces animaux injectés avec des doses moyennes, le 2^e ou le 3^e jour après l'injection, le tableau est tout autre. Pas d'hémoglobine dans l'urine. La rate est toujours très hypertrophiée ; elle n'est pas noire, quoique hyper-

1. Pour obtenir cet effet, nous avons besoin, dans nos expériences, suivant le pouvoir toxique du sérum, de 1 à 1 1/2 c. c. pour un cobaye de 400 grammes.

hémie. Le foie est hypertrophié et hyperhémie. Les reins ne présentent pas de modifications. On constate parfois, 7 à 12 heures après l'injection, une hypertrophie marquée de la rate; cette hypertrophie ne peut pas être mise entièrement sur le compte de l'hyperhémie, si l'on en juge d'après le réplétion de ses vaisseaux sanguins.

III. On observe également l'hypertrophie aiguë de la rate et l'hypertrophie partielle du foie dans l'intoxication des animaux par des doses non mortelles. Après avoir injecté sous la peau ou dans la cavité péritonéale d'une série de cobayes, des doses non mortelles, nous sacrifions successivement, 12 heures, 24 heures et 48 heures après l'injection, une partie de ces animaux. Nous avons toujours observé chez ces cobayes (dont les témoins restaient vivants), comme dans la deuxième série de nos expériences, une hypertrophie de la rate, sans avoir jamais trouvé la moindre hémoglobinurie. *La rate réagit dans l'empoisonnement par l'hémotoxine de la même façon que dans la maladie infectieuse.* Cela est compréhensible, puisque les leucocytes, grâce à l'action du fixateur spécifique, se sont comportés envers les globules rouges comme ils se comporteraient envers des éléments étrangers, qui auraient exercé sur eux une irritation spécifique.

Déjà, en expérimentant dans la cavité péritonéale du cobaye, nous avons pu nous convaincre que lorsqu'on y introduit du fixateur, les leucocytes dévorent non seulement les globules rouges d'un autre cobaye, mais même les leurs propres. On peut facilement obtenir ce résultat si, après avoir préparé le cobaye, on introduit dans sa cavité péritonéale quelques gouttes de sang pris dans son oreille; ou bien si l'on fait, à l'aide d'une canule, un petit traumatisme dans la cavité péritonéale.

Les mêmes phénomènes se passent dans les vaisseaux, surtout dans la rate et dans le foie des animaux, auxquels on a injecté des doses moyennes ou faibles d'hémotoxine dans la période d'hypertrophie de la rate, quand l'hémolyse n'est pas encore très marquée.

A l'état normal, la rate est le siège de la résorption des globules rouges morts; on peut toujours y trouver des polynucléaires ayant dévoré des globules rouges. Mais en examinant attentivement des frottis de pulpe splénique dans l'eau physiolo-

gique, on peut facilement constater que la majorité des leucocytes contiennent non seulement des globules rouges à peine modifiés, mais le plus souvent le produit de la désagrégation de ceux-ci sous forme d'amas de pigment. Ce processus se poursuit lentement; les phagocytes ne saisissent qu'un nombre insignifiant de globules rouges morts.

Sur des préparations semblables, mais provenant de la rate (au moment de son hypertrophie) des cobayes traités avec de l'hémotoxine, on trouve au contraire une quantité considérable de phagocytes, littéralement bourrés de globules rouges encore bien conservés et qui viennent, évidemment, d'être englobés.

En examinant la pulpe du foie dans la période préhémolytique de l'intoxication, on peut trouver le tableau de la phagocytose des globules rouges dans les cellules étoilées. Sur les coupes, on trouve souvent dans les veines hépatiques des mononucléaires (probablement des cellules endothéliales détachées) ayant englobé des globules rouges.

On trouve plus rarement la phagocytose dans la moelle osseuse. On obtient cette phagocytose des globules rouges propres de l'animal, aussi bien chez les animaux auxquels on a injecté des doses mortelles minima (et dans ces conditions l'animal a été sacrifié et étudié 24 heures après l'empoisonnement) que chez des animaux qui ont reçu des doses non mortelles et dont les témoins survivaient.

Il est évident que la diminution marquée du nombre des globules rouges, qui suit, chez l'homme ou chez l'animal, l'injection des doses non mortelles de sérum hémotoxique est due surtout à la réaction phagocytaire, et non pas à la dissolution directe des globules rouges dans le plasma.

Nous ne trouvons pas le même tableau de phagocytose à l'examen de la rate des animaux morts dans la période d'hémolyse; on est plutôt porté à penser à la leucolyse d'après la désagrégation des leucocytes. C'est à cette période que correspond la diminution du volume de la rate et sa friabilité. *La désagrégation des leucocytes amène évidemment l'apparition des alexines dans le sang, et c'est à cela qu'est dû le processus de dissolution des globules rouges.*

Les expériences exécutées après ablation de la rate parlent

en faveur de l'intervention de cet organe dans le processus d'hémolyse.

Après avoir splénectomisé 2 cobayes, nous leur injectons, 3 jours après l'opération, ainsi qu'à un témoin, des doses mortelles de sérum hémolytique. Le témoin est mort d'hémolyse le 3^e jour. L'un des deux cobayes splénectomisés est mort le 12^e jour après l'opération, avec des phénomènes d'ictère, d'amaigrissement général et d'hémolyse ; le second a survécu.

Dans une autre série d'expériences, nous avons pris 4 cobayes splénectomisés, de 350 à 400 grammes chacun, et 3 témoins. dont 2 pesaient 370 grammes chacun et le 3^e 500 grammes.

On a injecté sous la peau de tous ces cobayes (l'expérience a été faite le 4^e jour après la splénectomie) une même dose mortelle de sérum hémolytique. Tous les animaux splénectomisés ont survécu ; deux témoins qui pesaient le même poids que ces derniers sont morts le 3^e jour ; le 3^e témoin, de 500 grammes, a survécu.

Ainsi, la première réaction qui apparaît dans le système circulatoire, après l'intoxication par les hémolysines, est la phagocytose des globules rouges.

Si l'on ne peut pas toujours dire, dans ces expériences, si la phagocytose est due à une action directe sur les globules rouges ou bien sur les leucocytes, il est encore plus difficile de résoudre ce problème en analysant ce processus complexe dans l'organisme entier.

Cependant nous pouvons puiser quelques indications dans les expériences antérieures.

Dans le chapitre IV, nous avons relaté une expérience dans laquelle on introduisait dans la cavité péritonéale du cobaye, préparée par l'injection préalable de bouillon, du sang provenant d'un autre cobaye injecté avec une petite dose d'hémotoxine. Grâce à cela, les leucocytes de ce cobaye acquéraient la propriété de phagocyter des globules rouges normaux. Cependant un petit nombre de globules rouges de ce cobaye, comme on le voit dans l'expérience citée plus haut, se sont chargés du fixateur et ont acquis la propriété de devenir la proie des phagocytes du cobaye normal.

Nous avons également expérimenté avec le sang des cobayes qui ont reçu le fixateur et qui ont été sacrifiés pour l'étude

de leurs organes dans la période préhémolytique (chap. V).

Les expériences sur la phagocytose, ou bien sur l'action directe des alexines sur ce sang, ont montré qu'une partie insignifiante des globules rouges seulement prend le fixateur dans cette période.

Cependant, chez les témoins, qu'on a laissé survivre à la période de désagrégation des leucocytes, survient une hémolyse énergique.

Ces considérations rendent très probable l'hypothèse que non seulement dans la cavité péritonéale, c'est-à-dire dans des conditions exceptionnelles, mais aussi dans tout l'organisme, le fixateur hémotoxique se fixe aussi bien sur les globules rouges que sur les leucocytes, et que les deux modes d'action mènent à la manifestation de la fonction phagocytaire des leucocytes vis-à-vis de l'objet spécifique du fixateur, dans notre cas vis-à-vis du globule rouge.

Des recherches ultérieures devront montrer si ce double mode d'action des immunisines a toujours lieu dans les infections causées par tel ou tel microbe. Nous pouvons nous attendre d'avance à des réponses différentes en travaillant avec des microbes différents, car chaque mode d'action dépend, évidemment, de l'affinité plus ou moins grande d'un fixateur donné tantôt vis-à-vis de son microbe spécifique, tantôt vis-à-vis du protoplasma des phagocytes.

Quoi qu'il en soit, cette question sera résolue dans chaque cas particulier. Mais ce qui est déjà fait dans cette direction permet de considérer comme la plus probable l'hypothèse que les substances immunisantes fixatrices sont des stimulines pour les phagocytes, parce d'une part elles manifestent une affinité (se fixent) pour leur objet spécifique, par exemple pour le microbe; de l'autre part, pour le protoplasma des phagocytes, et en particulier pour la cytase renfermée dans ces derniers.

A ce point de vue, les substances immunisantes servent, dans le phénomène de phagocytose, d'intermédiaires entre l'objet phagocité et le phagocyte. C'est pourquoi elles méritent entièrement la dénomination de « corps intermédiaires » (*Zwischen-Körper*), que leur a donnée Ehrlich guidé par les considérations sur leur action humorale dans l'immunité.

SUR LES CYTASES

PAR LE D^r L. TARASSÉVITCH, DE KIEW (RUSSIE).

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

Dans son travail sur la résorption des cellules¹, M. Metchnikoff, après avoir étudié le sort des globules rouges d'oie injectés dans le péritoine ou sous la peau de cobayes, a établi que, chez les animaux neufs, ce sont presque exclusivement les leucocytes à noyau unique, les macrophages, qui saisissent ces globules et les digèrent dans leur intérieur d'une façon tout à fait pareille à celle que l'on observe dans les cellules de l'intestin des planaires. Les polynucléaires ne le font qu'à titre exceptionnel. La partie liquide de l'exsudat ne joue aucun rôle; on ne remarque jamais de dissolution extracellulaire. Les mêmes phénomènes s'observent si, au lieu de globules rouges d'une espèce étrangère, on introduit des spermatozoïdes ou des leucocytes. Les mêmes macrophages assurent ici encore la phagocytose.

En prélevant, à des intervalles différents, de petites quantités d'exsudat et en les étudiant tant à l'état frais que sur des préparations colorées, on trouve des globules rouges libres et intacts ou des globules phagocytés en état de digestion plus ou moins prononcée.

En même temps, une partie des leucocytes, bourrés d'hématies, viennent se fixer sur l'épiploon et de là un certain nombre passent dans les ganglions mésentériques, la rate, le foie, et plus tard pénètrent dans la circulation générale. On peut les décélérer dans le sang de la veine cave et dans le cœur droit. Quelques jours après, le sérum de l'animal, ainsi que ses exsudats, acquièrent des propriétés nouvelles, on y voit apparaître une agglutinine et une hémolysine, ou, pour être plus exact, un fixateur spécifique.

1. *Ann. Inst. Pasteur*, 1899, p. 737-769.

Donc, premier point important, l'apparition de ces substances spécifiques est subordonnée à l'acte de la phagocytose et de la digestion intracellulaire, ce qui fait déjà penser que ces substances doivent être produites par les leucocytes et notamment par les macrophages.

Pour pousser l'analyse plus loin, M. Metchnikoff a étudié les propriétés des extraits de différents organes de cobayes neufs et de cobayes traités par des injections de sang d'oie. Il a vu que, seuls, les organes macrophagiques : l'épiploon, les ganglions mésentériques et la rate possèdent des propriétés dissolvantes. Tous les autres organes, y compris la moelle osseuse, n'ont aucun pouvoir hémolytique.

Pour déterminer la nature de la substance dissolvante de ces extraits, il les a soumis à la température de 56° pendant 45 minutes ou 1 heure, après quoi ces extraits sont devenus inactifs.

Il est donc légitime d'admettre qu'il s'agit ici d'une substance pareille à celle qui confère les propriétés hémolytiques aux sérums ; qu'il s'agit ici d'une cytase.

Cette cytase, étant donné son origine, peut être appelée macrocytase ; en effet, les organes que nous venons d'énumérer sont les foyers principaux des macrophages. C'est à l'aide d'une cytase analogue ou identique que les macrophages du sang ou de la lymphe digèrent les cellules animales et c'est elle qui, passée dans le sérum lors de la formation du caillot, confère à ce sérum son pouvoir globulicide.

Nous savons depuis longtemps, grâce surtout aux travaux de M. Metchnikoff et de ses élèves, que dans la lutte contre les microbes, c'est aux leucocytes polynucléaires, aux macrophages, qu'appartient le rôle de beaucoup le plus important. Toute une série de travaux de M. Buchner et de ses élèves, de M. Denys et de ses élèves, et de beaucoup d'autres savants, travaux exécutés dans le but d'appuyer la théorie humorale de l'immunité, ont amené les auteurs à reconnaître que les leucocytes doivent être considérés comme les producteurs des substances bactéricides, des alexines ou cytases. Mais, amenés à cette conclusion, ils maintinrent néanmoins la doctrine humorale (quoique entamée il est vrai), en admettant la sécrétion vitale des cytases par les leucocytes et la présence de ces dernières dans le sang circulant.

Il n'entre pas dans notre sujet de discuter ces théories. Les travaux publiés sur cette question, non seulement par les partisans, mais encore par les adversaires de la théorie des phagocytes, et, en dernier temps, les travaux de M. Gengou¹ sur l'origine de l'alexine des sérums normaux, faits dans le laboratoire de M. Metchnikoff, ont bien démontré l'exactitude de la doctrine phagocytaire; ils ont établi, d'une part, que les polynucléaires doivent être considérés comme les producteurs de la cytase contenue dans les sérums; de l'autre, que cette cytase ne se trouve pas dans les plasmas et ne passe dans les humeurs qu'après la destruction des leucocytes.

Certes, on est encore en droit de désirer et de chercher la dernière preuve, c'est-à-dire l'isolement de ces substances à l'état pur; mais les preuves d'ordre biologique sont déjà suffisantes pour entraîner la conviction.

Si l'on considère le rôle des macrophages dans la destruction des cellules animales et celui des microphages dans la lutte contre les microbes, et si l'on se souvient des faits établis par M. Metchnikoff relativement à la résorption des cellules et aux transformations subies par les éléments englobés dans ces deux catégories de phagocytes, on arrive à la supposition que ces différences doivent être dues à des ferments digestifs, à des cytases différentes.

La question du nombre des cytases contenues dans un sérum est loin d'être résolue d'une façon uniforme par les savants qui s'en sont occupés.

Ainsi, d'un côté, MM. Buchner et Bordet sont partisans de l'unité de la cytase: toutes les actions globulicides et bactéricides d'un sérum donné seraient produites par une seule et même cytase (alexine, d'après leur terminologie).

La première considération, en faveur de cette théorie, est l'analogie des actions globulicides et bactéricides; la seconde, beaucoup plus importante, consiste en ceci: si l'on ajoute à un sérum quelconque des éléments sensibilisés, bactéries ou globules, ces éléments fixent toute l'alexine (ou toutes les alexines) contenue dans ce sérum (Bordet²). De sorte que le sérum, ainsi traité, devient incapable par suite d'exercer aucune action hémolytique ou bactéricide.

1. *Ann. Inst. Pasteur*, 1901, p. 68-84; *ibid.*, p. 232-248.

2. *Ann. Inst. Pasteur*, 1900, p. 257-296.

Ce fait, bien établi relativement à un nombre considérable de sérums, de globules et de bactéries, a certainement une grande valeur, mais il ne peut être considéré comme une preuve absolue de l'unité de la cytase parce que l'élément sensibilisé peut bien entraîner non seulement la cytase qui sert à produire une action sur cet élément, mais encore bien d'autres ferments et enzymes. Des faits analogues ont été déjà observés dans l'histoire des diastases; ainsi, la fibrine, est capable de fixer non seulement la trypsine et la pepsine, mais encore d'autres ferments.

M. Wilde¹ a réussi dans quelques cas à fixer toute la cytase d'un sérum, même par des éléments non sensibilisés, mais tout simplement sensibles à l'action de cette cytase. Ainsi, par exemple, le vibron cholérique et le coccobacille typhique, mis en contact avec le sérum de chien pendant un temps suffisamment long et en quantité suffisante, lui enlèvent toute sa cytase. Le sérum devient ensuite inactif vis-à-vis des globules qu'il dissolvait auparavant. Dans les mêmes conditions, le bacille charbonneux, non sensible à l'action du sérum du chien, laisse cette cytase intacte.

Telles sont les preuves apportées par les unicistes.

D'un autre côté, MM. Ehrlich et Morgenroth², Neisser³, Wechsberg⁴ et certains autres auteurs, défendent la théorie de la pluralité des cytases. Il serait trop long d'exposer toutes les considérations d'ordre théorique qui amènent MM. Ehrlich et Morgenroth à conclure que chaque sérum normal contient toute une série de compléments (cytases) différents; nous nous contenterons de mentionner les faits principaux qui servent de base à cette manière de voir. Ainsi, ces savants ont trouvé dans le sang d'un bouc traité avec du sang de mouton, non seulement une cytase ordinaire qui est détruite par la température de 56°, mais encore une autre cytase thermostabile; il en était de même dans quelques sérums de chèvres et de veaux normaux.

— Du sérum de cheval qui dissout les globules de cobaye ainsi que ceux de lapin, ils parvinrent à séparer deux complé-

1. *Berl. Klin. Woch.*, 1901, p. 878-881.

2. *Berl. Kl. Woch.*, 1899, p. 481-486; *ibid.*, 1900, p. 691-687; *ibid.*, 1901, p. 598-604.

3. *Deut. Med. Woch.*, 1900, p. 790-792.

4. *Wien. Klin. Woch.*, 1901, p. 1194.

ments : un, actif vis-à-vis des globules de lapin, est retenu par le filtre (Puxallfilter), tandis que l'autre, actif vis-à-vis des globules de cobaye, passe à travers. Par les injections de sérum normal, ils ont obtenu ensuite un antisérum capable de neutraliser non seulement l'action du sérum ayant servi à l'immunisation, mais de plusieurs autres sérums. D'où ils tirent la conclusion que le sérum ayant servi pour l'immunisation, devait contenir plusieurs compléments, parce qu'il provoqua la formation de plusieurs anticcompléments.

Neisser a montré que le sérum de lapin additionné d'une quantité suffisante de bacilles charbonneux tués, perd ses propriétés bactéricides tout en conservant son pouvoir hémolytique, d'où il conclut à la présence d'au moins deux compléments, dont l'un serait bactéricide et l'autre hémolytique. Enfin, tout dernièrement encore, Wechsberg communiqua l'expérience suivante : le sérum de chèvre, actif contre les globules de cobayes et contre le vibrion de Nordhafen, après avoir dissous une quantité suffisante de sang de cobaye, perd son pouvoir hémolytique, c'est-à-dire devient incapable de dissoudre une nouvelle portion de sang, tout en restant actif vis-à-vis le vibrion Nordhafen. De ce fait l'auteur tire une conclusion analogue à celle de Neisser. On peut accepter cette interprétation ; mais on peut aussi objecter que, après avoir hémolysé une certaine quantité de sang, le sérum devient incapable d'en dissoudre encore, non pas par suite de l'épuisement de sa cytase, mais par suite de l'accumulation des produits du processus hémolytique, qui empêchent la cytase encore restante d'exercer son action. Du reste, M. Bordet (*l. c.*) a démontré que les globules normaux sont incapables de fixer toute la cytase, puisque le sérum qui ne dissout plus les globules normaux, dissout encore bien les globules sensibilisés.

Comme l'on peut juger d'après cet exposé, la question n'est pas encore résolue. Pour la trancher, il faudrait pouvoir isoler la ou les cytases des sérums à l'état pur. Mais comme il est difficile d'apporter des preuves décisives en travaillant avec le sérum, il est naturel d'essayer de tourner la difficulté et de s'adresser pour cela aux sources des cytases, aux leucocytes et aux organes producteurs de ces leucocytes.

Dans le travail déjà cité de M. Gengou, il a été établi que les

leucocytes polynucléaires contiennent, sous un même volume, une quantité plus considérable de cytase bactéricide que le sérum correspondant, tandis que les mononucléaires n'en contiennent pas du tout ou très peu. On doit donc considérer ces polynucléaires ou microphages comme producteurs de la microcytase contenue dans le sérum; ce qui cadre bien avec les faits relatifs à la phagocytose des microbes par cette espèce de leucocytes. Mais si l'on n'admet dans le sérum qu'une cytase à laquelle on attribue à la fois le pouvoir bactéricide et globulicide, on se heurte à une contradiction : les microphages producteurs de la cytase ne prennent pour ainsi dire aucune part dans l'englobement et la digestion des hématies, quoique contenant le ferment nécessaire, tandis que les macrophages, privés de cytase, les phagocytent et les digèrent d'une façon énergique. Au contraire, il suffit d'admettre que les deux variétés de leucocytes qui présentent de fonctions différentes, possèdent aussi deux cytases différentes : microcytase et macrocytase, pour que les faits que nous venons d'exposer, s'expliquent d'une façon simple et claire.

Cette théorie de deux cytases a été prévue et indiquée par M. Metchnikoff qui a bien voulu nous charger d'étudier la question. Nous le prions d'accepter ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour sa bienveillance constante et pour les conseils qu'il nous donnait au cours de notre travail.

Action hémolytique des extraits d'organes.

Pour étudier l'action dissolvante des extraits d'organes ¹, nous nous sommes adressé principalement à des cobayes, à des lapins et à des chiens. Comme réactifs, nous employons le plus souvent les globules rouges d'oiseaux (oie, poule, pigeon) qui sont plus commodes à observer grâce à leur volume, à leur forme et, surtout, à la présence de noyaux, et aussi le sang des mammifères (cobaye, lapin, chien, etc.). Après

1. Nous préparons nos extraits de la façon suivante : l'organe à examiner était coupé avec des ciseaux et trituré dans un mortier sur une toile métallique ou avec du sable très fin, en y ajoutant peu à peu de l'eau physiologique (à 0,85 0/0) en quantité 4-5 fois plus grande que le poids de l'organe. L'extrait-émulsion ainsi obtenu, après un séjour de 2-4 heures à l'étuve à 37°, était placé à la glacière pendant 16-24 heures et ensuite servait pour les expériences.

la centrifugation du sang défibriné et 2-3 lavages à l'eau physiologique pour faire disparaître toute trace de sérum, on préparait une émulsion des hématies dans un volume d'eau physiologique égal à celui du sérum décanté. Avec ces émulsions des hématies et des extraits d'organes, nous faisons des mélanges dans des tubes à essai ou dans des verres de montre, ainsi que des préparations en goutte suspendue. Ces mélanges ont été toujours laissés au laboratoire à la température ordinaire (15°-20°); quelquefois seulement on les portait à l'étuve, lorsqu'on cherchait à avoir une action plus rapide.

Chez les cobayes, la grande majorité des organes se montraient, dans tous les cas examinés, inactifs, même après un contact de plusieurs jours avec les globules énumérés plus haut. Ainsi, nous avons trouvé la moelle osseuse dépourvue de tout pouvoir hémolytique, même si l'on prenait 20 parties de l'extrait pour 1 partie de l'émulsion de globules. Nous avons examiné, au point de vue de son action hémolytique, 10 extraits différents. Il en fut de même pour le foie qui a été examiné 11 fois, le rein 6 fois, les ganglions surrénaux 4 fois; les ovaires 2 fois, les testicules 2 fois, le cerveau 2 fois, et la moelle épinière 1 fois.

Tout autres ont été les résultats obtenus avec les extraits des organes macrophagiques: épiploon, ganglions mésentériques et rate. Ici les extraits sont actifs dans la grande majorité des cas, sinon toujours. Ainsi l'épiploon se montra hémolytique dans 25 cas sur 28, les ganglions mésentériques 24 fois sur 26 et, enfin, la rate 23 fois sur 29¹.

Outre ces organes macrophagiques, il faut encore mentionner les glandes digestives, et surtout le pancréas dont les extraits possédaient un pouvoir dissolvant vis-à-vis des hématies dans tous les cas observés (8 fois), et les glandes salivaires qui provoquaient souvent (3 fois sur 4) une hémolyse légère.

La dissolution par ces extraits se fait d'une façon identique à celle produite par les sérums hémolytiques. Si l'on prend les globules d'oiseaux, on voit d'abord les noyaux deve-

1. Tout dernièrement M. Schibayama, du laboratoire de M. Kitasato, a publié dans le *Centralbl. f. Bact.* (1901, Bd. xxx, p. 760) un travail dans lequel il dit avoir constaté aussi que, chez les cobayes, la rate et les gang. lymphatiques, sont hémolytiques pour les globules de chien. Tous les autres organes, y compris la moelle osseuse, ne l'étaient pas. L'auteur n'a pas examiné les extraits de l'épiploon.

nir apparents; ensuite, les hématies prennent une forme ronde, commencent à pâlir; enfin, il ne reste de visible que le noyau arrondi et, en diaphragmant fortement, on voit la membrane des globules qui se transforment en vésicules nucléées incolores. Les noyaux ne se dissolvent pas dans les extraits. Si l'on conserve les préparations en gouttes suspendues pendant plusieurs jours (jusqu'à 7, 8 et même plus), on voit encore les noyaux, quoique gonflés et irréguliers. Seulement toutes ces altérations, au lieu de s'accomplir en quelques heures et même en quelques minutes, comme cela s'observe avec les sérums fortement hémolytiques, ne commencent d'ordinaire qu'après plusieurs heures de contact et ne s'accomplissent que lentement. Il faut souvent 24 heures, quelquefois même plus longtemps, pour que l'hémolyse se fasse. Il va sans dire qu'étant donné cette lenteur d'action, nous avons toujours soin de préparer des mélanges témoins : hématies-extraits des organes inactifs, hématies-sérums, etc. La dissolution par les extraits d'organes le plus souvent n'est précédée ni accompagnée d'agglutination, ce qui est encore une preuve de l'indépendance de ces deux phénomènes. Mais avant d'entrer dans les détails et pour ne pas tomber dans des redites, nous exposerons brièvement les résultats obtenus chez d'autres animaux, notamment chez les lapins et les chiens.

Chez les lapins, l'épiploon se montre actif 3 fois sur 8, la rate 7 fois sur 11, les ganglions mésentériques 8 fois sur 12. La moelle osseuse, le foie, le thymus, se sont montrés toujours inactifs. Les glandes salivaires sont faiblement dissolvantes. En général, le pouvoir hémolytique des extraits des organes de lapin est inférieur à celui des organes de cobaye. Chez les chiens, l'épiploon hémolysa 2 fois sur 4¹, les ganglions mésentériques 5 fois sur 7, et enfin la rate 5 fois sur 7. D'autres organes — foie, rein, testicule, poumon, glande thyroïde, moelle osseuse, ne produisent pas d'hémolyse. Le pancréas est très hémolytique.

En somme, on peut affirmer que de tous les organes de l'économie, ce sont seulement les organes macrophagiques et les

1. Il faut remarquer que la préparation de l'extrait de l'épiploon chez les chiens est très difficile, par suite de sa grande surcharge graisseuse. On ne réussit que difficilement et encore avec les épiploons maigres. L'épiploon de lapin est aussi peu commode à manier; on est empêché par la disposition anatomique du pancréas et par la présence très fréquente de parasites (coccidies).

glandes digestives qui possèdent un pouvoir hémolytique plus ou moins marqué. Pour déterminer la force hémolytique respective de chacun de ces extraits, nous avons procédé ainsi : nous employions d'ordinaire des mélanges de 5 parties d'extrait pour une partie d'émulsion de globules. Si l'hémolyse se faisait vite et d'une façon énergique, nous préparions des mélanges en proportion de 3 : 1; 2 : 1 (et même 1 : 1) : si, au contraire, l'hémolyse ne se faisait pas ou était très faible, nous ajoutions de nouvelles quantités d'extrait jusqu'à la proportion de 10 : 1. Les extraits qui en cette proportion ne donnaient pas d'hémolyse au bout de 24 à 36 heures, étaient considérés comme inactifs. Il serait trop long et inutile de résumer ici tous les tableaux d'observations étant donné leur ressemblance. Il suffit d'en présenter trois, un pour chaque espèce animale employée.

I

	A midi.	A 4 h.	A 7 h.	Le lendemain à midi.	Le surlend. matin.
1) Extrait de l'épipl. de cobaye.....	5 parties.	Dissolution complète.			
Emuls. d'hématies d'oie.....	1 partie.				
2) Extrait des gangl. mésent.....	5 parties.	Dis. à peine commen- cée.	Dissolution faible.	Dissolution forte.	Dissolution complète.
Hém. d'oie.....	1 partie.				
3) Extrait de la rate. Hém. d'oie.....	5 parties. 1 partie.	Dissolution faible.	Dis. presq. complète.	Dissolution complète.	
4) Ext. de la moelle osseuse.....	5 parties.				
Hém. d'oie.....	1 partie.	O	O	O	O
5) Ext. du pancréas. Hém. d'oie.....	5 parties. 1 partie.	Dissolution * complète.			
6) Extrait du foie.. Hém. d'oie.....	5 parties. 1 partie.				
7) Sérum du même cobaye.....	5 parties.	O	O	O	O
Hém. d'oie.....	1 partie.				

* La dissolution par les extraits de pancréas s'accompagne d'un changement de couleur du sang. Le liquide perd vite sa coloration rose et devient brunâtre.

II

	A 5 h. du soir.	A 7 h.	Le lendemain à 11 h.	A 7 h.
1) Sérum de lapin....	6 parties.	Légère agglutina- tion.	Idem.	Dissolution très faible.
Hématies d'oie.....	1 partie.			
2) Extrait de l'épi- ploon.....	6 parties.	O	Dissolution faible.	Dissol. plus prononcée, mais incomplète.
Hém. d'oie.....	1 partie.			
3) Extrait de la rate.. Hém. d'oie.....	6 parties. 1 partie.	O	Dissolution complète.	

4) Extrait des gangl. mésent.	6 parties.	}	O	Dissolution complète.
Hém. d'oie.	1 partie.			
5) Extrait de la moelle osseuse.	6 parties.	}	O	O
Hém. d'oie.	1 partie.			

III

		Après 4 h.		Après 24 h.
1) Sérum de chien.	40 parties.	}	Dissolution complète.	
Hématies de cobaye.	1 partie.			
2) Extrait de l'épiploon.	40 parties.	}	O	Dissolution incomplète.
Hém. de cobaye.	1 partie.			
3) Extrait des gangl. mésent.	40 parties.	}	Dissolution commençante.	Dissolution complète.
Hém. de cobaye.	1 partie.			
4) Extrait de la rate.	40 parties.	}	Dissolution commençante.	Dissolution complète.
Hém. de cobaye.	1 partie.			
5) Extrait de foie.	40 parties.	}	O	O
Hém. de cobaye.	1 partie.			
6) Extrait de la glande thyroïde.	40 parties.	}	O	O
Hém. de cobaye.	1 partie.			

Comme on peut voir d'après ces expériences (et les autres sont concordantes à ce point de vue), le pouvoir hémolytique des organes macrophagiques paraît ne pas être en rapport direct avec celui des sérums correspondants : par exemple, le sérum de cobaye est inactif, ou dans quelques cas très faiblement actif, vis-à-vis des hématies employées ; il en est de même pour celui de lapin. Le sérum de chien possède, au contraire, une puissance hémolytique considérable.

Or, les organes macrophagiques se montrent doués de propriétés globulicides chez ces trois espèces. Faut-il en conclure qu'il s'agit ici de substances autres que les cytases ?

Déjà les faits observés par M. Metchnikoff relativement au sort des hématies injectées, le rôle joué dans ce processus par les macrophages et la constitution anatomique des organes étudiés, parlent contre une pareille supposition et font, au contraire, penser que les substances hémolysantes contenues dans les extraits, doivent être analogues à celles des sérums.

Les organes macrophagiques devraient leurs propriétés à la présence d'un ferment protéolytique endo-globulaire, mis en liberté par la destruction des cellules, d'une macrocystase.

Pour s'assurer de la justesse de cette hypothèse, il fallait appliquer à nos extraits les réactions qui permettent de conclure à la présence de cytases et avant tout d'étudier l'influence de la chaleur.

Si l'on chauffe les extraits à la température de 55,5-56° pendant une demi-heure ou une heure, on voit que le pouvoir hémolytique, tantôt disparaît, tantôt diminue et, dans quelques cas, rares, il est vrai, reste même presque sans changement, c'est-à-dire que l'extrait chauffé agit, après le chauffage, dans les mêmes proportions et en même temps qu'avant. On peut en juger d'après le tableau suivant :

Les extraits de l'épiploon ont été examinés à ce point de vue 10 fois, sur ces 10 expériences nous avons observé :

L'abolition complète des propriétés hémolytiques.....	5 fois.
Leur affaiblissement plus ou moins considérable	5 —
Leur conservation.....	3 —
Pour les extraits des ganglions mésentériques examinés 10 fois :	
Abolition complète.....	4 fois.
Affaiblissement.....	5 —
Conservation.....	1 —
Pour les extraits de la rate examinés 12 fois :	
Abolition.....	8 fois.
Affaiblissement.....	3 —
Conservation.....	1 —

Ainsi, l'influence de la température n'apparaît pas, au premier abord, d'une façon aussi nette et évidente que pour les sérums actifs dont les cytases sont toujours détruites par le chauffage pendant une demi-heure à la température de 56°, sauf dans quelques cas spéciaux indiqués par MM. Ehrlich et Morgenroth ; mais la différence n'est qu'apparente. En effet, les cytases se trouvent dans les extraits et dans les sérums dans des conditions différentes de milieu, et celles-ci influencent la résistance des cytases à la chaleur. M. Buchner¹ a démontré, par exemple, que l'addition de sulfates alcalins et de chlorure de sodium augmente la résistance des alexines des sérums vis-à-vis de la chaleur.

En plus, il faut prendre en considération ce fait que, dans les extraits, la macrocytase est loin d'être mise entièrement en liberté. Au contraire, on peut affirmer qu'elle est retenue en grande partie par des débris cellulaires contenus dans ces extraits-émulsions, et qu'elle n'abandonne ces débris que lentement et d'une façon incomplète. En effet, l'émulsion entière se montre toujours plus active que la partie liquide obtenue par la décantation au repos ou par la centrifugation. Si on filtre

1. *Archiv für Hygiene*, 1892, v. 10, p. 112-178.

l'extrait sur du papier buvard, le liquide clair qui passe est en grande partie privé des propriétés propres à l'émulsion entière.

Ce liquide, dans lequel toute la cytase présente est en dissolution, se comporte vis-à-vis de la température comme les sérums. On peut donc comprendre facilement la thermostabilité relative des extraits, par analogie avec ce que nous savons sur la façon dont la chaleur influence toutes sortes de diastases et de toxines en solution et à l'état sec. Toutes ces substances, à l'état dissous, sont beaucoup plus sensibles au chauffage que quand elles sont desséchées ou se trouvent fixées sur des éléments solides.

Du reste, cette thermostabilité n'est pas très considérable, puisque, quand nous portions nos extraits à des températures un peu plus élevées, 58,5, 60, 62°, pendant 1 à 2 heures, le pouvoir hémolytique disparaissait complètement. Ce fait est à rapprocher des constatations relatives aux extraits de différents endo-enzymes ou ferments endo-cellulaires, obtenus jusqu'à présent, comme l'endo-trypsine des levures de MM. Martin et Hahn¹, l'amibodiastase de Mouton² et l'actinodiastase de Mesnil³ qui sont tous inactivés à la même température de 60°.

Donc, par rapport à l'influence de la chaleur, la parenté avec les cytases des sérums est bien claire. Il est évident que l'on ne peut pas attribuer ce pouvoir hémolytique qui est aboli à de si basses températures, à des phénomènes osmotiques ou à la présence de quelques substances chimiques.

L'expérience suivante prouve que l'on peut réussir à activer l'action de ces extraits par l'addition des fixateurs spécifiques.

I

1) Emulsion de globules de lapin	4 parties.	} Dissolution complète en 12 heures.
Sérum fixateur	2 parties.	
Extrait de l'épiploon de cobaye	4 —	
2) Emulsion de globules de lapin	1 partie.	} Agglutination: pas de dissolution.
Sérum fixateur	2 parties.	
Extrait de l'épipl. chauffé	4 —	
3) Emulsion de globules de lapin	1 partie.	} Dissolution faible en 12 heures.
Extrait de l'épiploon non chauffé	6 parties.	
4) Emulsion de globules de lapin	1 partie.	} Aggl. légère + traces de dissolution.
Sérum de cobaye neuf chauffé	2 parties.	
Extrait de l'épipl. de cobaye	4 —	

1. *Zeitschrift für Biologie*. Bd. XL, p. 117-172.

2. *Société de Biologie*, 20 juillet 1901.

3. *Ann. Inst. Pasteur*, 1901, p. 352-397.

II

1) Extrait de l'épiploon de cobaye.....	6 parties.	} Dissolution incomplète après 6 heures.
Emulsion des hématies d'oie.....	1 partie.	
2) Extrait de l'épiploon.....	4 parties.	} Dissolution complète après 3 h. 1/2.
Sérum fixateur.....	2 —	
Emuls. des hém. d'oie.....	1 partie.	

Certes, l'action du fixateur n'est pas aussi rapide qu'avec des sérums frais.

Cela tient-il au passage très lent de la macrocytase dans le liquide, ou à ce qu'elle se trouve dans l'intérieur des cellules, dans un état un peu différent de celui où elle est dans le sérum? Il est difficile de le dire quant à présent. Le fait n'en constitue pas moins un argument en faveur de l'opinion que nous soutenons.

En étudiant les organes des animaux immunisés, on trouve que les propriétés hémolytiques des organes macrophagiques restent les mêmes et que d'autres organes n'acquièrent pas ces propriétés par l'immunisation. Le fait que les organes macrophagiques n'ont pas leur pouvoir globulicide augmenté par l'immunisation, peut être expliqué de la façon suivante : c'est dans ces organes que se trouvent en majeure partie les globules injectés ou plutôt leurs débris. Or, on sait que les éléments sensibles prennent les fixateurs et les cytases. Donc, rien d'étonnant que la force globulicide des organes macrophagiques ne paraisse pas être accrue. On voit seulement que presque tous les organes deviennent agglutinants; les agglutinines diffusent donc facilement dans l'organisme. La présence de petites quantités de fixateur peut aussi être démontrée en ajoutant les extraits chauffés à du sérum neuf. Même dans les organes macrophagiques des animaux normaux, on peut démontrer la présence de la substance fixatrice — naturellement, non spécifique — comme on peut en juger par l'expérience suivante :

Extrait chauffé de la rate de chien, 5 parties.	
+ Sérum lapin, 5 parties. + Emulsion des	
hématies d'oie, 1 partie.....	= Dissolution complète en 24 h.
Même extrait, 10 parties. + Emulsion des	
hématies, 1 partie.....	= 0
Sérum lapin, 10 parties. + Emulsion des héma-	
ties, 1 partie.....	= Agglutination.
Extrait chauffé de gang. mésentériques, 5 parties.	
+ Sérum lapin, 5 parties. + Emulsion	
des hématies, 1 partie.....	= Dissolution complète.

Nous avons recherché si les agglutinines et les fixateurs

passent dans l'urine et si ces substances se retrouvent chez le fœtus. Pour cela nous avons examiné des extraits faits avec des fœtus entiers (chez les femelles pleines de cobayes, ayant reçu pendant la grossesse 2-3 injections de sang d'oie), avec des placentas et avec du liquide amniotique; dans tous ces cas nous n'avons vu aucune action dissolvante, ni fixatrice.

*
* *

Il était tout indiqué, après que nous avons constaté la présence d'une macrocytase dans les organes énumérés, de voir s'ils renferment aussi une microcytase, c'est-à-dire s'ils sont capables d'une action bactéricide. Le nombre des expériences que nous avons faites sur ce sujet, est trop petit pour permettre d'exprimer une opinion ferme; il faudra les compléter. Mais les quelques expériences que nous avons faites, peuvent néanmoins servir à indiquer que l'action bactéricide est loin d'être prononcée, au moins quant aux ganglions mésentériques.

Les ganglions mésentériques d'un chien, en proportion de 10 : 1, dissolvent le sang d'oie en 7 heures $1/2$. Le sérum, étendu de 3 fois son volume d'eau physiologique (l'organe étant broyé avec 3 fois son poids d'eau physiologique, il faut prendre aussi le sérum de même dilution), dissout le même sang deux fois plus vite. A des quantités égales (1 c. m.) de chacun de ces deux liquides, on ajoute un peu d'émulsion de culture cholérique. On ensemence les tubes aussitôt, dans les deux cas, un nombre considérable de colonies : après 9 heures, 200 colonies pour le sérum et ∞ pour les ganglions; après 22 heures, 23 colonies pour le sérum et ∞ pour les ganglions mésentériques. Nous avons obtenu des résultats analogues avec les ganglions mésentériques de lapins et de cobayes; dans un de ces cas, la moelle osseuse se montra bactéricide. On voit donc que les pouvoirs hémolytique et bactéricide des organes sont loin de marcher de pair.

Les faits que nous venons d'exposer démontrent que les organes macrophagiques doivent jouer un rôle dans l'élaboration des hémolysines naturelles et artificielles. M. London¹, se basant sur les connaissances relatives à l'importance de la rate dans la lutte contre différents microbes, a eu l'idée d'étudier

¹ *Archives des Sciences biologiques (russes)*, 1901, v. VIII, n° 4, p. 333.

l'influence de l'ablation de la rate sur l'élaboration des hémolysines. Après avoir dératé plusieurs cobayes, il commença à immuniser quatre d'entre eux presque aussitôt après l'opération (le premier une heure après, le deuxième le lendemain, le troisième deux jours après). Aucun de ces cobayes ne lui donna de sérum hémolytique. De ces faits M. London conclut que la rate joue un rôle de premier ordre dans l'élaboration de l'hémolysine.

Ce que nous savons sur le pouvoir hémolytique des organes, et sur le rôle des macrophages du sang et de la lymphe, dans le processus d'englobement et de digestion des globules d'espèce étrangère ne nous permet pas d'attribuer à la rate un rôle exclusif. C'est pourquoi nous avons repris les expériences de M. London, en nous mettant dans des conditions un peu différentes. Nous avons dératé un certain nombre de cobayes ; nous avons enlevé l'épiploon à d'autres ; chez d'autres encore, nous avons extirpé les ganglions mésentériques ; et enfin, à la dernière série, nous avons enlevé tous ces organes à la fois. (Il est à remarquer qu'à cette dernière opération, un très petit nombre d'animaux ont survécu.) Après avoir gardé nos animaux jusqu'au rétablissement complet et retour au poids primitif (de 2 à 4 semaines), nous avons commencé à les immuniser, en même temps que des témoins, par des injections intrapéritonéales et sous-cutanées des hématies d'oie, faites à 8 jours d'intervalle. Après 3 injections, nous avons examiné les sérums de tous ces animaux et nous avons constaté que les sérums des animaux ainsi opérés, étaient tout aussi actifs que ceux des témoins. Il n'est donc pas possible, d'attribuer la propriété de produire les hémofixateurs et les macrocytases à un seul organe. Chez les animaux opérés, on trouve une hypertrophie des plus prononcées de tous les ganglions lymphatiques et une leucocytose très considérable ; il ne manque donc pas d'éléments capables de remplacer, au point de vue de la formation des hémolysines, les organes enlevés.

Ainsi, les organes macrophagiques ont un pouvoir hémolytique bien marqué, tandis que la moelle osseuse, foyer principal des microphages, en est dépourvue. Or, les rapports paraissent être justement contraires, relativement à l'action bactéricide de ces mêmes organes.

*
* *

Action hémolytique des exsudats ; rapports qui existent entre les macrocytases et les microcytases ; influence du fixateur sur la phagocytose.

Si l'on injecte dans le péritoine de cobaye les hématies d'une espèce étrangère, lavées et émulsionnées dans la solution physiologique, afin d'éviter l'action du sérum sur les phagocytes et sur les hématies elles-mêmes, et si l'on prélève les exsudats pour les étudier ensuite¹, on peut observer les phénomènes suivants : pendant quelque temps, les globules rouges restent libres et intacts ; puis après un temps variable, entre 1 et 3 heures, commence l'afflux des leucocytes parmi lesquels les microphages jouent un rôle pour ainsi dire passif ; si l'on arrive à voir un microphage englober une hématie, ce n'est qu'à titre d'exception, alors que les macrophages commencent leurs fonctions dès les premières heures et les poursuivent jusqu'à l'absorption complète de tous les globules. Pour que la phagocytose soit totale, il faut un temps variable selon la quantité du sang injecté : 24 heures et même moins peuvent suffire, quand on injecte des quantités faibles (1/2 à 1 c. c.) d'émulsions des hématies à 5-10 0/0. Il faut, au contraire, 3 à 4 jours et même plus quand on emploie des émulsions non diluées et en quantités relativement grandes, 3-5-7 c. c. Dans ces cas, en faisant des examens successifs, on voit que le nombre des hématies libres diminue de plus en plus, mais que les hématies restent toujours intactes en conservant leur forme et leur hémoglobine. Lorsque, après la disparition de l'exsudat, on tue l'animal et qu'on fait des frottis avec l'épiploon qui est en ce moment couleur de rouille, et chargé d'un grand nombre d'éléments figurés de l'ancien exsudat, on voit, à côté des macrophages bourrés d'hématies englobées à de différents stades de digestion, encore un certain nombre d'hématies libres, ayant leur aspect normal et ne présentant qu'un seul changement, la colorabilité plus faible des noyaux par les couleurs basiques. Ce fait est peut-être dû au passage de quelques substances du noyau dans le protoplasma, c'est ce qui serait à rapprocher des formes en tonneau décrites par M. Metchnikoff (*l. c.*).

1. Nous avons fait pour cela des préparations en gouttes suspendues et des préparations colorées.

Dans ce cas on ne trouve donc aucune trace d'action humorale. L'affirmation contraire de von Dungern qui, en injectant dans le péritoine des cobayes du sang de pigeon, observa surtout de la dissolution extracellulaire et qui, partant, ne fait jouer aux macrophages qu'un rôle de second ordre, ne peut être expliquée que par le fait qu'il a injecté du sang défibriné et non des hématies émulsionnées dans de l'eau physiologique. Le sérum ainsi injecté, d'une part, provoque une phagolyse considérable, et de l'autre, peut être nuisible à des hématies.

L'emploi du rouge neutre qui colore d'une façon intense les noyaux des globules rouges phagocytés est très commode; on peut suivre les processus *in vitro*, pas à pas, mais il est à remarquer que l'emploi de cette couleur n'est pas une chose indifférente. Si on fait des préparations en chambre humide, avec les gouttes d'exsudat, prélevées à l'aide de pipettes, on observe, au bout de 24 heures, une hémolyse complète dans les préparations additionnées du rouge neutre, tandis que le phénomène n'a pas lieu dans les préparations ordinaires.

En étudiant attentivement les changements survenant *in vitro* et *in vivo*, on peut remarquer que *in vitro* une certaine partie des hématies subit l'hémolyse extracellulaire, ce qui n'a jamais lieu *in vivo*. Il est à noter que, seules, les hématies se trouvant au voisinage de macrophages avariés, subissent cette dissolution, de sorte qu'on a l'impression que le fait doit être attribué à quelques substances échappées du phagocyte après sa destruction. Cette dissolution extracellulaire ne s'observe que quand l'exsudat prélevé est déjà assez riche en macrophages, c'est-à-dire quand il est prélevé 10 heures et plus tard après l'injection du sang. Pourquoi cette dissolution ne va-t-elle pas plus loin et ne touche-t-elle jamais la totalité des hématies, il est difficile de le dire avec certitude; néanmoins la labilité même de la cytase peut donner une explication satisfaisante. On observe aussi que la phagocytose se fait *in vitro*, mais d'une façon plus lente et plus incomplète que *in vivo*.

En injectant, dans le péritoine de cobayes, des substances comme la gluten-caséine, l'aleurone, le bouillon, la solution physiologique, on a, 18-24 heures après, des exsudats composés presque exclusivement de microphages (plus de 80 0/0). Ces

exsudats se sont montrés toujours incapables de la moindre action hémolytique, de même que les extraits de leucocytes centrifugés et lavés. L'addition du fixateur spécifique n'exerce aucune influence sur les extraits.

Après 36-48 heures, l'exsudat change et devient de plus en plus riche en macrophages. De tels exsudats provoquent une hémolyse quoique peu marquée.

Pour prouver que cette hémolyse est due à la macrocytase de ces macrophages, il aurait fallu en préparer des extraits; mais on se heurte à des difficultés: la quantité des exsudats est faible, et les macrophages du péritoine du cobaye supportent mal la centrifugation et le lavage, de sorte qu'il nous fut impossible d'avoir des extraits sûrement débarrassés du sérum d'exsudat et en quantité suffisante. C'est pourquoi nous nous sommes adressés à des lapins.

Pour avoir de bons exsudats, nous avons employé la gluten-caséine selon les indications données par Gengou¹.

18-24 heures après l'injection intrapleurale de 5 c. c. de gluten-caséine ou de l'émulsion d'aleurone à 5 0/0 dans le bouillon, on tue l'animal par saignée, on prélève l'exsudat dont la quantité varie de 2 à 10 c. c. et qui contient en grande majorité des microphages, plus de 80 0/0 et quelquefois même plus de 90 0/0. Les exsudats ainsi obtenus sont centrifugés et lavés 2-3 fois à l'eau physiologique. Puis, les leucocytes, additionnés de leur volume d'eau physiologique, sont congelés dans un mélange de glace et de sel marin et transportés dans de l'eau à 37°. Cette opération est répétée 2 ou 3 fois pour favoriser la destruction cellulaire et le passage de la cytase dans le liquide. On laisse ensuite cette émulsion macérer dans l'étuve à 37° pendant 14-24 heures, après quoi on examine les propriétés de ces extraits comparativement avec un volume égal de sérum additionné de son volume d'eau physio-

1. La poudre obtenue après broiement de gluten-caséine est ajoutée à la dose de 10 0/0 à une solution de KOH à 1/2 0/0 chauffée à 100°. Une demi-heure après, le mélange est transporté au bain-marie à 56°-60° pour 2-4 heures. On stérilise le liquide louche ainsi obtenu 2 ou 3 fois à 100° et on en injecte 4 à 5 c. c.

A propos de cette substance, il faut remarquer que sa composition et partant ses propriétés sont variables. Les échantillons en morceaux qui donnent, après les manipulations indiquées, un liquide louche, produisent de bons exsudats. Les échantillons en poudre, en se dissolvant complètement, donnent un liquide clair. L'injection d'un tel liquide ne provoque que des exsudats faibles au point de vue de la quantité et peu riches en cellules.

logique, avec du sérum d'exsudat, etc. Dans 10 expériences faites ainsi, nous n'avons jamais constaté la moindre action hémolytique par rapport aux globules d'oie, de poule et de cobaye. Cette absence d'hémolyse ne permet pas encore de conclure à l'absence de la cytase, elle peut y être contenue, mais en quantité insuffisante. Or l'addition du fixateur nous permet de déceler les quantités, même très faibles, des cytases. C'est pourquoi nous avons soumis à l'action de nos extraits différents globules en présence des fixateurs correspondants. Pour cela, on ajoute du fixateur spécifique à l'extrait et ensuite les hématies; ou on met d'abord les hématies pendant 2-3 heures à 37° au contact du sérum spécifique chauffé et on les transporte après le lavage dans les extraits. Dans 6 expériences faites de cette façon, il n'y a jamais eu d'hémolyse. D'autre part, pour nous assurer que ces extraits ont un pouvoir bactéricide, nous avons essayé, dans 3 cas, leur action vis-à-vis du coccobacille typhique et du vibrion cholérique; ils se sont montrés, égaux ou même supérieurs aux sérums correspondants. Nous donnons ici le tableau complet d'une de nos expériences :

Un lapin reçoit le 6 mai à 4 heures, 5 c. c. de gluten-caséine dans chaque plèvre; le 7 mai, c'est-à-dire 18 heures après, il est saigné et on retire de la plèvre droite 8 c. c. d'un exsudat visqueux de couleur gris jaunâtre, qui donne après la centrifugation à peu près 3/4 c. c. de dépôt composé de 91 0/0 de polynucléaires et de 9 0/0 de mononucléaires. De la plèvre gauche, on retire 6 c. c. d'exsudat qui contient 89 0/0 de polynucléaires, et 11 0/0 de mononucléaires. Après avoir traité ces exsudats d'après le procédé décrit plus haut, on prépare pour l'étude des propriétés hémolytiques les mélanges suivants :

		A 6 h.	A 6 h. 1/2.	Le lendemain à 10 h. 1/2.
1) Extrait des leucocytes de la plèvre gauche	5 parties.	O	O	O (même ap. 2 h. à 37°).
Emulsion des hématies d'oie....	1 partie.			
2) Même extrait.....	3 parties.	Agglutination + O.	Idem.	Idem.
Sérum fixateur....	2 —			
Emulsion des hématies.....	1 partie.			

3) <i>Idem</i> que le 1, mais avec les leucocytes de la plèvre droite.....		O	O	O
4) <i>Idem</i> que 2 (les leucocytes de la plèvre droite).		Agglutination + O.	<i>Idem.</i>	<i>Idem.</i>
5) <i>Idem</i> que 4, mais avec les hématies de poule.....		O	O	O
6) <i>Idem</i> que 3, avec les hématies de poule.....		O	O	O
7) Sérum du même lapin..... 5 parties.	}	Légère agglutination + O.	<i>Idem.</i>	<i>Idem.</i>
Hématies d'oie... 1 partie.				
8) Sérum..... 3 parties.	}	Agglutination + dissolution avancée.	Dissolution complète.	
Fixateur..... 2 —				
Hématies..... 1 partie.				
9) Sérum..... 5 parties.	}	Légère agglutination + traces de dissolution.	<i>Idem.</i>	Dissolution mais faible.
Hématies de poule..... 1 partie.				
10) Sérum d'exsudat. 5 parties.	}	O	O	O, traces d'agglutinat.
Hématies d'oie... 1 partie.				
11) Sérum d'exsudat. 3 parties.	}	Agglutination + O.	<i>Idem.</i>	<i>Idem.</i>
Fixateur..... 2 —				
Hématies d'oie... 1 —				
12) Sérum d'exsudat. 5 parties.	}	O	Légère agglutin. + O.	<i>Idem.</i>
Hématies de poule. 1 partie.				

Pour voir l'action bactéricide de ces extraits, nous nous sommes servi de la méthode des ensemencements successifs. Nous avons comparé l'extrait de leucocytes, le sérum d'exsudat et la solution physiologique, et nous avons vu qu'après 19 heures tous les germes (vibron cholérique) ont été tués dans l'extrait, le sérum donna encore quelques colonies après 24 heures. Le sérum de l'exsudat et la solution physiologique se comportèrent d'une façon identique : le nombre des colonies après 24 heures a été innombrable.

Cette expérience, qui du reste peut être facilement répétée, est très démonstrative : l'extrait de polynucléaires, plus riche en microcytase que le sérum correspondant, ne contient pas de macrocytase ; non seulement il n'est pas globulicide par lui-même, mais il ne peut être activé par le fixateur spécifique ; tandis que le sérum correspondant l'est à un degré très prononcé. Il faut donc admettre qu'il existe une différence réelle entre les macrocytases et les microcytases.

Nous rappellerons ici que Schattenfroh ¹ a déjà constaté

1. *Archiv. für Hygiene*, 1899, Bd. 35, p. 135-203, et *Münch. med. Woch.*, 1898 p. 333-359. Tout dernièrement, M. Gruber (*Münch. med. Woch.*, p. 1965-1968), a parlé des expériences analogues aux nôtres ; lui non plus n'a pas réussi à activer les extraits des leucocytes par les hémofixateurs. On peut donc considérer ces faits comme établis d'une façon définitive.

que les extraits polynucléaires très bactéricides ne sont pas hémolytiques et qu'il se prononça dans le sens de la non-identité des substances bactéricides des leucocytes et des substances globulicides des sérums. Si l'on pouvait réussir tout aussi facilement à obtenir chez le lapin des exsudats mononucléaires, la question de la dualité des cytases serait tranchée aussitôt avec une évidence absolue. Mais on se heurte à des difficultés qui ne permettent pas d'avoir des résultats nets et non susceptibles d'objections.

Ainsi, le procédé qui consiste à provoquer des exsudats macrophagiques par injections intrapleurales des globules rouges d'oie n'est pas applicable : les macrophages qui saisissent et digèrent ces hématies, emploient leur macrocytases à cette digestion. On sait bien par les expériences de Bordet (*l. c.*) que la quantité de cytases n'augmente pas d'une façon tant soit peu sensible pendant l'immunisation. Ce fait qui doit être mis au moins en partie sur le compte de la fixation de la cytase par les éléments sensibles, nous indique pourquoi l'étude des exsudats ainsi obtenus, ne peut pas donner de résultats probants.

D'autre part, en injectant la gluten-caséine et l'émulsion d'aleurone, on a, après 48-72 heures, des exsudats très peu abondants dans lesquels la plupart des leucocytes se trouvent dans les petits blocs fibrineux formant presque la totalité de l'exsudat. En faisant des frottis de ces blocs on trouve aussi bien des mono que des polynucléaires, en proportion de 50-60 de mononucléaires pour 40-50 de polynucléaires. Avec un tel exsudat, après avoir trituré ces blocs et les avoir traités par la méthode de Buchner, nous avons obtenu une dissolution très incomplète de globules de poule : cette dissolution est activée par le fixateur. Mais il y a eu coagulation (puisqu'il y a eu de la fibrine), destruction des leucocytes différents, toute une série de phénomènes qui ne permettent pas de savoir exactement d'où proviennent les cytases en pareils cas, c'est pourquoi nous n'avons pas poursuivi ces expériences.

Le sérum de chien est doué de propriétés hémolytiques assez considérables, il était donc tout indiqué de chercher dans ses leucocytes la présence de la macrocytase.

Les exsudats à polynucléaires ont été obtenus dans la plèvre par la gluten-caséine et par l'aleurone, et sous la peau, par le nitrate d'argent.

Les extraits préparés avec des leucocytes ainsi obtenus, aussi bien des exsudats sous-cutanés (3 expériences), que des exsudats pleuraux (3 expériences), se sont montrés toujours incapables de produire l'hémolyse, même quand on leur ajoutait des fixateurs spécifiques, d'après le procédé indiqué à propos des extraits polynucléaires de lapin. Ils possédaient en même temps un pouvoir bactéricide vis-à-vis du coccobacille typhique et du vibron cholérique et encore d'autres propriétés, comme, par exemple, celle de dissoudre la gélatine. Donc, chez le chien, ce ne sont très probablement pas les polynucléaires, producteurs de la microcytase du sérum, qui lui communiquent son pouvoir hémolytique si marqué.

Nous avons employé ensuite les injections sous-cutanées de l'essence de térébenthine. Les 2 premiers jours après l'injection, on n'a qu'une faible quantité de sérosité avec peu d'éléments cellulaires. C'est au 3^e et surtout au 4^e jour, que l'on peut obtenir du pus en quantité quelquefois très considérable (50 c. c. et plus). Ce pus épais, jaunâtre, contient, à côté des débris du tissu nécrosé, beaucoup de cellules détruites dont il est difficile de déterminer la nature exacte, puis une grande quantité de mononucléaires. Tous les globules bien reconnaissables sont à un seul noyau. Étant donnée la propriété que possède l'essence de térébenthine de produire l'hémolyse, nous avons eu soin de laver la partie solide de nos exsudats jusqu'à 6 fois (en centrifugeant et en enlevant avec une pipette la partie liquide chaque fois) pour éloigner toute trace d'essence. Après le dernier lavage, le résidu solide était additionné de son volume d'eau physiologique (toujours à 0,85 0/0) et traité par la méthode de Buchner. Sur 9 chiens, nous avons pu avoir 5 fois des exsudats dans les conditions décrites, les autres fois les exsudats ont été hémorragiques, ou ne contenaient pas de globules libres; on avait un bloc du tissu mortifié au lieu d'exsudat, etc. Sur ces 5 exsudats, 2 se sont montrés nettement hémolytiques presque au même degré que le sérum sanguin, tandis que dans 3 cas cette action a fait défaut. Étant donnée cette inconstance des résultats, nous ne nous permettrons d'en tirer aucune conclusion ferme. Mais puisque nous avons pris toutes les précautions pour éviter les causes d'erreurs dans les résultats positifs, et puisque avec les exsudats

Voici les détails d'une de nos expériences. Un chien reçoit sous la peau, de chaque côté, 1 c. c. d'essence de térébenthine. Trois jours après, on lui injecte dans chaque plèvre 10 c. c. de gluten-caséine. Vingt-quatre heures après cette injection intrapleurale, il est saigné à blanc, on retire de 2 abcès sous-cutanés jusqu'à 100 c. c. de pus épais, crémeux, jaunâtre, sentant la térébenthine. Toutes les cellules reconnaissables sont à un seul noyau. Ce pus, après 6 lavages, est traité comme il a été décrit. De la plèvre droite, on retire 20 c. c. d'exsudat contenant 93 0/0 de polynucléaires; de la plèvre gauche, 15 c. c. avec 82 0/0 de polynucléaires. Ces exsudats sont traités comme plus haut avec cette différence qu'on ne les lave que 2 fois. Avec les extraits obtenus on fait les mélanges suivants, dont on fait aussi des préparations en chambre humide pour le contrôle microscopique.

A 2 h. 3/4. A 3 h. 1/2. A 4 h. A 6 h. Le lendemain.

1) Sérum de chien...	5 p.	Agglutination lé-	Dissolution com-	Un peu plus.	Dissolu- tion à moitié.	Dissolution complète.
Emulsion des hé-		gère.	commen-			
maties d'oie....	1 p.		cante.			
2) Même sér. chauffé.	5 p.	Agglutination lé-	<i>Idem.</i>	<i>Idem.</i>	<i>Idem.</i>	Agglutina-
Hématies	1 p.	gère.				tion + 0.
3) Extrait de polynu-		Agglutination lé-	<i>Idem.</i>	<i>Idem.</i>	<i>Idem.</i>	<i>Idem.</i>
cléaires.....	5 p.	gère.				
Hém. d'oie	1 p.					
4) Sérum de cet exsu-	5 p.	Agglutination lé-	<i>Idem.</i>	<i>Idem.</i>	<i>Idem.</i>	<i>Idem.</i>
dat.....	5 p.	gère.				
Hém. d'oie.....	1 p.					
5) Eau de lavage de						
polynucléaires..		0	0	0	0	0
Hém. d'oie.....						

6) Sérum de l'exsudat mononucléaire..	5 p.	} Agglutina- tion lé- gère.	Commen- cement de	Dissolut.	Diss. plus
Hém. d'oie.....	4 p.		dissolut.	<i>Idem.</i>	qu'à moitié, mais incompl.
7) Eau de lavage de mononucléaires.	5 p.	} 0	Quelques traces de	<i>Idem.</i>	La dissolu- tion reste ébauchée.
Hém. d'oie.....	4 p.		dissolut.		<i>Idem.</i>
8) Eau de 2 ^e lavage..	5 p.	} 0	0	0	0
Hém. d'oie.....	4 p.		0	0	0
A 3 h.					
9) Extrait de mononu- cléaires.....	5 p.	} 0	Dissolution com- men- çante.	Dissolu- tion à moitié.	Dissolution complète.
Hém. d'oie.....	4 p.		<i>Idem.</i>		

L'extrait de mononucléaires, après le chauffage pendant une demi-heure à 65°, a perdu ses propriétés dissolvantes. Dans une autre expérience calquée sur celle-ci, l'extrait de l'exsudat se montra même plus actif puisqu'il nous donna, en proportion de 5 : 2, une dissolution complète en 24 heures; le chauffage à 57° pendant 30 minutes a aboli presque complètement son action. Il est à noter que, dans 3 expériences où l'hémolyse n'a pas eu lieu, l'action du sérum de l'exsudat (malgré la présence de la térébenthine) ne se montra que très faible ou même nulle. Ceci montre que l'on ne peut expliquer les résultats positifs par l'action de l'essence de la térébenthine, et rend probable notre hypothèse de la destruction possible de la macrocytase.

Il faut remarquer encore que, dans les cas positifs, le sérum d'exsudat qui contenait de l'essence de térébenthine a été plus faiblement hémolytique que l'extrait leucocytaire.

Pour étudier l'action des exsudats chez les animaux préparés par les injections des hématies, nous nous sommes adressé de nouveau à des cobayes.

Quand on injecte dans le péritoine d'un animal immunisé des hématies suspendues dans de l'eau physiologique, on voit, au lieu d'une phagocytose très lente exclusivement par des mononucléaires et d'une dissolution extracellulaire nulle, des phénomènes tout différents. La phagocytose est très rapide; les polynucléaires y prennent une part presque aussi active que les macrophages. Cette phagocytose se fait à la manière des amibes par de grands pseudopodes et non pas selon le mode des Vampyrelles. Ceci a été déjà décrit par M. Metchnikoff. En même temps, la destruction humorale des hématies est toujours bien prononcée. On pourrait croire, au premier abord, à la présence d'une cytase libre dans le plasma de l'exsudat. Mais une pareille

opinion ne peut pas être soutenue, étant donné que les injections intrapéritonéales provoquent toujours un certain degré de phagolyse et partant le passage dans le plasma des ferments endoleucocytaires. Il suffit de préparer le péritoine par des injections préalables de liquides comme le bouillon, la solution physiologique, etc., et d'employer ensuite les émulsions des hématies à la température de 37° afin d'entraver, autant que possible, la phagolyse, pour que la destruction extracellulaire soit réduite à un minimum négligeable. Tels sont les faits observés *in vitro*.

En mélangeant les exsudats prélevés chez ces animaux avec les hématies et en observant ces mélanges en gouttes suspendues, on trouve les mêmes phénomènes : d'une part, la destruction extracellulaire due à l'avarie d'un certain nombre de leucocytes : de l'autre, une phagocytose s'accomplissant à vue d'œil. Quelques minutes suffisent pour amener un englobement complet de toutes les hématies intactes et aussi de celles qui ont déjà perdu leur hémoglobine, tandis qu'avec les leucocytes des animaux neufs, il faut une journée entière et même plus, *in vivo*. *In vitro*, les leucocytes neufs ne phagocytent que lentement et seulement en partie. La majorité des hématies restent libres. Pourquoi cette exagération des fonctions phagocytaires ? S'agit-il ici, pour ainsi dire, d'une éducation des leucocytes ou d'une influence stimulante de la part des fixateurs qui, comme on sait, circulent librement dans les humeurs des animaux préparés. Pour répondre à cette question, nous avons fait une série d'expériences suivantes : nous injectons à des cobayes des globules chargés de fixateurs spécifiques ou nous faisons à des animaux neufs des injections d'hématies et de sérums spécifiques chauffés, simultanément, avant et après celle des hématies.

Dans ces cas, les phénomènes observés ont été identiques à ceux déjà décrits. Nous prenions ensuite des leucocytes chez les animaux neufs et les mélangions à des globules sensibilisés *in vitro* : même effet. Enfin, nous nous sommes servi de leucocytes pris chez des animaux injectés préalablement avec des sérums hémolytiques chauffés. On lavait les leucocytes pour les débarrasser du fixateur qui pouvait être présent dans le liquide et on les mettait en contact avec des hématies. La phagocytose, quoique moins énergique que dans le cas précédent, a eu néan-

moins lieu. L'influence stimulante des fixateurs sur la fonction phagocytaire est donc bien évidente.

L'apparition du travail de M. Sawtchenko qui a obtenu les mêmes résultats et leur a ajouté d'autres non moins intéressants, nous a fait abandonner les expériences dans cette direction.

Nous ne les enregistrons que dans le but de confirmer ce fait important.

Puisque chez les animaux préparés, les polynucléaires sont tout aussi capables, ou à peu près, de phagocyter les hématies que les macrophages, on pourrait conclure que chez eux les exsudats différents devraient se comporter vis-à-vis des hématies d'une façon identique. Eh bien, l'observation nous montre le contraire; malgré cette faculté qu'acquièrent les microphages d'englober les hématies, les exsudats à polynucléaires sont tout de même de beaucoup inférieurs à ceux à macrophages, quant à leur pouvoir hémolytique. Nous avons fait beaucoup d'observations à ce sujet, nous en exposerons quelques-unes avant d'en tirer les conclusions.

1. Chez un cobaye immunisé dont le sérum dissout les hématies d'oie en proportion de 3 : 1 en 4 heures, on provoque, par l'injection de bouillon, un exsudat qui contient 22 heures après l'injection, 68 0/0 de polynucléaires. Cet exsudat est congelé tel quel et mélangé avec des hématies en proportion de 5 : 1. Aucune hémolyse. Même 36 heures après, il n'y a que des traces de dissolution. On attend encore 18 heures, on retire de l'exsudat avec 79 0/0 de mononucléaires. Cet exsudat commence à agir au bout de 15 minutes, et 24 heures après, la dissolution est complète.

2. Chez les 2 cobayes dont les sérums sont hémolytiques en proportion de 1 : 1 (le premier donne la dissolution complète en 10, l'autre en 20 minutes), les exsudats mononucléaires sont aussi actifs; chez le premier, nous avons à la même proportion une hémolyse complète après 24 heures, chez l'autre presque complète en même temps.

3. A un cobaye préparé, on injecte 5 c. c. de solution physiologique; 1/2 heure après, on retire de l'exsudat qui contient très peu d'éléments cellulaires. Ceci ne doit pas nous étonner; le manque d'éléments cellulaires est dû à la phagolyse. Ce liquide dissout les hématies d'oie en proportion de 5 : 1 en une demi-heure.

4 heures après, on reprend de l'exsudat contenant encore peu d'éléments, mais surtout des polynucléaires et quelques lymphocytes. Cet exsudat, même en 20 heures, ne donne que des traces de dissolution; 23 heures après, on retire de l'exsudat avec 70 0/0 de polynucléaires et 30 0/0 de mononucléaires. Cet exsudat hémolyse en 5 heures.

24 heures après, on reprend de l'exsudat avec 85 0/0 de mononucléaires, il hémolyse en 15 minutes.

L'animal est laissé en repos; deux jours après, il est de nouveau injecté avec 5 c. c. d'aleurone; 18 heures après, on retire un exsudat avec 62 0/0 de polynucléaires. Cet exsudat demande 5 heures pour que l'hémolyse soit complète.

4. Un autre cobaye immunisé dont le sérum hémolyse en proportion de 5 : 1 en 20 minutes, donne 16 heures après l'injection d'aleurone un exsudat très épais, riche en cellules presque exclusivement polynucléaires (95 0/0). Cet exsudat ne donne au bout de 29 heures que des traces d'hémolyse.

On voit ainsi que, si le pouvoir hémolytique des exsudats est toujours inférieur à celui du sérum correspondant, il est néanmoins nettement en rapport avec la quantité de macrophages; plus il y en a, plus l'exsudat est actif. Certes, on peut faire l'objection qu'avec les changements de la teneur des exsudats en ces deux espèces de leucocytes, il se passe aussi d'autres changements. La constance des rapports indiqués n'en constitue pas moins un fait qui s'ajoute à tant d'autres, déjà énumérés, comme une nouvelle preuve des rapports étroits qui existent entre les fonctions des macrophages et les processus hémolytiques.

Malgré toutes les difficultés qu'on a pour préparer des extraits des exsudats péritonéaux à mononucléaires chez les cobayes, nous avons réussi dans 2 cas à avoir des extraits macrophagiques actifs, quoique faiblement.

Tous ces faits, malgré les lacunes qui existent dans nos expériences et que nous avons eu soin d'indiquer au cours de notre exposé, nous permettent de conclure à l'existence d'une différence entre les ferments digestifs des deux espèces de leucocytes, entre leurs cytases; d'autant plus que beaucoup d'autres considérations parlent dans le même sens. Ainsi les macrophages et les microphages ont une origine diverse; les premiers proviennent,

comme ceci a été établi par M. Ehrlich, des ganglions lymphatiques et de la rate, tandis que les polynucléaires ont leur source principale dans la moelle osseuse.

Ces organes eux-mêmes ont aussi des propriétés différentes au point de vue qui nous occupe. Les différences morphologiques et chimiques, les dernières prouvées par les réactions des protoplasmas vis-à-vis des substances colorantes, sont aussi bien nettes. Enfin, les fonctions remplies par les leucocytes sont loin d'être identiques. Les microphages, sans toucher aux cellules animales, saisissent et digèrent vite les microbes; les macrophages, au contraire, très énergiques vis-à-vis des cellules animales, ont des fonctions phagocytaires beaucoup moins prononcées vis-à-vis des microbes. Quelquefois, ils ne les englobent pas du tout; dans d'autres cas, après les avoir phagocytés, ils ne les digèrent que lentement. Ils peuvent même devenir en dehors de l'organisme de véritables milieux de culture pour les microbes englobés. On a donc un nombre considérable de preuves en faveur de la théorie de deux cytases.

Il serait très intéressant de pouvoir dissocier les deux cytases, celle des macrophages et celle des microphages, dans du sérum sanguin. Les procédés de fixation, employés jusqu'à présent, n'ont pas permis, comme nous avons vu par l'exposé des travaux relatifs à ce sujet, de trancher cette question. Avec les éléments chargés de fixateurs, on prive un sérum de toutes ses cytases (ou de toute sa cytase); sans employer les fixateurs, on ne parvient pas à enlever toute la cytase même à l'aide des éléments sensibles, au moins dans beaucoup de cas. Ceci nous explique, en grande partie, les divergences de vues des auteurs cités plus haut. Il faut chercher un autre procédé. Nous avons essayé le procédé suivant : si on injecte dans les veines d'un animal des substances comme la peptone, on provoque une leucocytose considérable. Eh bien, en déterminant, d'une part, le pouvoir bactéricide et le pouvoir hémolytique d'un sérum, et de l'autre, le nombre et l'espèce de leucocytes avant et après ces injections, on pourrait peut-être tirer quelques indications utiles. Malheureusement, les données que nous avons obtenues chez les animaux ainsi traités (4 lapins), ne nous ont pas avancé beaucoup. Il y a dans ces cas une leucocytose et il paraît y avoir une augmentation de la teneur du sérum en cytase; mais

elle porte à la fois sur le pouvoir hémolytique et le pouvoir bactéricide.

Ceci n'a rien d'étonnant puisque si le nombre des microphages augmente, il faut compter aussi avec l'augmentation du nombre des macrophages. Et du reste, il est presque impossible de réaliser des expériences de ce genre avec une exactitude qui permette d'en apprécier tous les détails et d'en tirer des conclusions fermes. Les différences que l'on trouve, sont souvent dans les limites d'erreurs possibles. En nous résumant, nous pouvons poser les conclusions suivantes :

1. Chez les animaux sur lesquels nous avons expérimenté (cobaye, lapin, chien), seuls les organes macrophagiques (épiploon, ganglions mésentériques, rate) et les glandes digestives possèdent des propriétés dissolvantes.

Tous les autres organes, y compris la moelle osseuse, source principale des microphages, sont dénués de tout pouvoir hémolytique. Quant au pouvoir bactéricide, c'est l'inverse qui paraît avoir lieu ; les ganglions du mésentère ne contiennent pas de quantités appréciables de microcytase.

2. Les extraits de microphages sont bactéricides et ne sont pas hémolytiques : même, l'addition d'un hémolixateur spécifique n'est pas capable de les activer. C'est le contraire qui a lieu pour les extraits de macrophages. Il est à remarquer que, par suite des difficultés techniques concernant l'obtention d'exsudats et d'extraits macrophagiques, cette proposition ne peut pas être exprimée d'une façon aussi affirmative que celle concernant les extraits microphagiques.

3. Les propriétés respectives des organes et des exsudats macrophagiques et celles des organes et des exsudats microphagiques doivent être attribuées à deux cytases différentes ; la microcytase active vis-à-vis des cellules animales dans le premier cas et la microcytase active vis-à-vis des microbes dans le second ; ces deux cytases ne passent dans les humeurs que par suite de la destruction des leucocytes correspondants.

4. Les fixateurs possèdent la propriété d'activer la phagocytose *in vivo* aussi bien qu'*in vitro*.

Quoique se trouvant en partie à l'état de liberté dans les plasmas, les fixateurs doivent être considérés aussi comme des ferments provenant des leucocytes et des organes macrophagiques.

RECHERCHES SUR LES LÉSIONS VASCULAIRES

PROVOQUÉES PAR LES TOXINES DIPHTÉRIQUES

PAR LE D^r KOMOTZKY

AVEC LES PLANCHES I ET II.

Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.

Les investigations des auteurs ont, depuis longtemps déjà, porté sur les lésions vasculaires provoquées par les maladies infectieuses et divers empoisonnements, comme, par exemple, l'alcoolisme chronique.

De longue date, les lésions vasculaires fréquemment remarquées chez les vieillards, même lorsque l'on ne trouvait dans les antécédents de ces sujets ni maladie infectieuse plus ou moins longue, ni intoxication chronique quelconque, ont attiré l'attention des cliniciens ; mais, en ces derniers temps seulement, ces lésions vasculaires ont été l'objet de recherches histologiques.

D'un autre côté, la présence dans l'intestin de l'homme d'une grande quantité de microorganismes, rend plausible cette hypothèse, que les parois des vaisseaux ne restent pas indifférentes à l'égard des produits des échanges de ces microorganismes.

Alors que les altérations du système nerveux central, provoquées par l'injection des poisons, ont depuis longtemps déjà attiré l'attention des auteurs, aucun travail n'a encore été consacré à l'étude des lésions provoquées par les mêmes causes.

Aussi, le professeur Metchnikoff, à qui nous avons demandé de bien vouloir nous indiquer un sujet de recherches, nous a-t-il proposé d'étudier les modifications des vaisseaux que provoquent chez les animaux les injections de toxines bactériennes, et de commencer ces recherches par l'injection de toxines diphtériques.

Au début de nos expériences, nous étions embarrassé par le choix des doses à injecter. Il semblait que l'intérêt principal de ces expériences devait se concentrer sur celles faites avec de

très petites doses, capables de provoquer chez les animaux l'intoxication chronique, mais en même temps assez élevées pour ne pas être indifférentes à l'organisme animal. En injectant des toxines très diluées, on risquait de ne pas provoquer des altérations et de perdre beaucoup de temps.

Les recherches expérimentales n'ayant pas encore été faites jusqu'à présent dans ce sens, il était également intéressant de savoir quelles étaient les lésions provoquées par de fortes doses de toxines introduites dans l'organisme animal.

D'un autre côté, en expérimentant sur un grand nombre d'animaux, nous comptons en trouver peu, il est vrai, qui pourraient résister à des doses de toxines répétées et relativement élevées.

1/50^e de centimètre cube de toxine diphtérique dont nous nous servions, injecté sous la peau, tuait un lapin de 1,500 grammes en l'espace de 3 à 5 jours : les doses injectées oscillaient entre 0,02 et 0,01 de centimètre cube. La pureté de la toxine était contrôlée à l'aide d'ensemencements sur l'agar-agar, répétés tous les mois. Les injections étaient faites sur des lapins, soit dans le tissu cellulaire de la peau abdominale, soit dans les veines des oreilles, à l'aide d'une seringue stérilisée. La dilution de la toxine aux degrés voulus était faite avec la solution physiologique stérilisée de sel marin. Après la mort de l'animal en expérience, on commençait 1 à 2 gouttes du sang du cœur sur l'agar-agar.

L'examen microscopique portait sur des fragments de 1/2 c. c. de rate, de foie, de rein, de poumon, du cœur, ainsi que sur les gros vaisseaux émergeant du cœur. Les pièces étaient durcies, tantôt dans un mélange à parties égales d'une solution de bichromate de potasse à 4 0/0 et de formoline du commerce à 20 0/0, tantôt dans une solution de formoline à 10 0/0, additionnée d'acide chromique, dans la proportion de 1/6 à 1/10 0/0.

Les deux mélanges étaient chaque fois préparés au moment de s'en servir. Les fragments, d'abord lavés, étaient ensuite placés dans de l'alcool de concentration croissante et finalement dans de l'alcool absolu, puis traités par le chloroforme chauffé à 40° et portés dans la paraffine molle, refroidie jusqu'à la solidification à peine commençante.

Ensuite, après les avoir laissés à l'étuve pendant une ou deux

heures, on plaçait les fragments à examiner dans de la paraffine solide, où ils restaient encore une ou deux heures.

La recherche de la graisse était faite à l'aide de la liqueur de Flemming.

Nous avons examiné au microscope les organes de 20 lapins dont le sang s'est montré à l'ensemencement absolument stérile.

Les animaux en expérience avaient succombé de 3 à 19 jours après l'injection. Quinze lapins reçurent une seule injection; quatre reçurent deux et un trois injections.

Dans tous ces cas, nous avons constaté une réaction inflammatoire des vaisseaux, se traduisant par leur dilatation considérable, parfois même excessive et par leur hyperhémie. Dans un grand nombre de cas, l'augmentation du nombre des globules blancs était tellement prononcée dans les vaisseaux des viscères, qu'on pouvait même sans numération précise parler de leucocytose. Dans 18 cas, on pouvait, en outre, constater l'augmentation du nombre des polynucléaires à protoplasma finement granuleux et se colorant par l'éosine en un rouge plus ou moins vif. Dans certains cas, le nombre de ces pseudoéosinophiles était tellement considérable, qu'il fallait admettre que le protoplasma de presque tous les polynucléaires avait subi une métamorphose appropriée.

Il s'agissait de savoir si cette altération de protoplasma constituait une réaction spécifique des leucocytes vis-à-vis de la toxine diphtérique. Dans ce but, on injecta à un lapin un c. c. du même bouillon (bouillon Martin), qui servait à la préparation de la toxine dont nous nous étions servi. Le lapin fut tué le 5^e jour; l'examen des organes ne permit pas d'y reconnaître une anomalie quelconque.

Dans les cas où l'hyperémie était particulièrement prononcée, il y avait en même temps des phénomènes d'œdème de l'adventice des parois vasculaires; les fibres en étaient dissociées; entre elles, se trouvait un liquide albuminoïde coagulé; dans les mêmes points, les noyaux des cellules connectives ne fixaient point ou fixaient à peine les matières colorantes.

Très souvent on notait aussi, dans ces cas d'hyperhémie très marquée, la rupture des glomérules de Malpighi, avec extravasats consécutifs.

Les lésions de dégénérescence consistaient en une très faible

dégénérescence graisseuse de l'endothélium vasculaire. Nous n'avons pas constaté d'hyalinisation bien nette de l'adventice notée par les auteurs chez les sujets ayant succombé à la diphtérie.

A côté des lésions déjà décrites, nous avons constaté, dans 12 cas, de l'infiltration de la paroi vasculaire par des globules blancs; six fois il s'agissait de polynucléaires (pseudoéosinophiles), infiltrant les parois des vaisseaux hépatiques et six fois, d'infiltration de vaisseaux rénaux par de petites cellules rondes. La survie, après l'injection des animaux dans les reins desquels nous avons constaté ces infiltrations, était de 3, 4, 6, 8 et 9 jours; le 6^e lapin qui, 8 jours après la première injection sous-cutanée de 1/100 c. c. de toxine reçut la même dose, par la même voie, survécut 15 jours.

Ces infiltrations de petites cellules étaient disposées exclusivement sur le trajet des veines, en intéressant la partie externe de l'adventice artérielle, quand celle-ci adhérait intimement à la veine. Les foyers d'infiltrations les plus étendus se trouvaient dans le rein du lapin qui a vécu 15 jours après avoir reçu deux injections; il en est de même du nombre d'infiltrations constaté sur la coupe.

Dans 2 des 6 cas où l'on a rencontré ces infiltrations, on notait, à côté de petits éléments mononucléaires, quelques polynucléaires (pseudoéosinophiles). La figure 4 de la planche n° 1 représente un petit foyer de cette infiltration mixte (grossissement faible). La figure 5 représente le même foyer, examiné à l'immersion.

En examinant minutieusement ces infiltrations de petites cellules qui apparaissent si vite après l'injection de la toxine, on voit qu'elles sont formées par une agglomération de cellules rondes variant peu dans leurs dimensions et dont le noyau, petit et fortement coloré, est entouré d'un anneau protoplasmique très étroit. Parfois ces cellules sont tellement serrées les unes contre les autres qu'il devient impossible de distinguer les limites de leur protoplasma. Ailleurs elles sont plus disséminées entre les fibres connectives qui les séparent.

Près des veines dont les parois sont plus minces (planche 1, fig. 2), ces cellules sont particulièrement serrées les unes contre les autres, tandis que dans les veines à parois plus épaisses les

cellules infiltrantes sont plus disséminées et séparées les unes des autres par des fibres connectives (planche 1, fig. 3).

Si la production de ces infiltrations était due à la transformation des cellules connectives, elles auraient dû atteindre le maximum d'intensité dans les parois connectives épaisses ; or, en réalité, ces infiltrations sont également prononcées dans les parois des veines, formées à peine par quelques fibres connectives (planche 1, fig. 1 et 2).

En raison de ce que nous venons de dire, en prenant, d'autre part, en considération ce fait, que les infiltrations en question se montrent déjà le troisième jour après l'injection, et que l'on y constate la présence des polynucléaires (pseudo-éosinophiles), qui sont incontestablement des éléments morphologiques du sang, il faut admettre que ces infiltrations se forment grâce à la migration des lymphocytes du torrent sanguin. En examinant, d'autre part, les cellules connectives entre lesquelles sont disposés les petits éléments ronds de l'infiltration, on ne constate pas de formes que l'on pourrait considérer comme des formes de passage de la cellule connective en une petite cellule ronde.

Les infiltrations de petites cellules rondes ont été observées, jusqu'à présent, dans les processus inflammatoires chroniques ; or, les mêmes lésions ont été notées bientôt après l'injection de la toxine.

Aussi, peut-on se demander si cette infiltration ne traduit pas la réaction inflammatoire contre les portions toujours renouvelées de toxines, élaborées par les microorganismes qui provoquent un processus inflammatoire chronique. Ainsi, nous l'avons déjà dit, dans six cas nous avons constaté, dans les vaisseaux du foie, une infiltration de la paroi vasculaire par des polynucléaires (pseudo-éosinophiles).

La fig. 6 de la planche 2 représente un de ces cas où l'infiltration est particulièrement abondante, la coupe étant examinée à un faible grossissement ; la fig. 7 de la planche 1 représente une partie de cette infiltration examinée à l'immersion. A un examen plus détaillé de ces infiltrations, on constate que les polynucléaires (pseudo-éosinophiles) sont disposés entre les fibres connectives dissociées de la paroi vasculaire et infiltrent, en même temps, le parenchyme hépatique péri-vasculaire.

Ici, les polynucléaires infiltrent les parois des veines, de

même que les petites cellules rondes infiltrent les parois des veines du rein.

L'infiltration occupe exclusivement la paroi de la veine sus-hépatique et ne s'observe jamais dans celle de la veine porte.

Si la lésion frappe en premier lieu les veines, c'est très probablement parce que leurs adventices très minces et très lâches présentent, comparées à la paroi des artères, des conditions plus favorables aux mouvements amœboïdes des leucocytes.

En effet, les parois des veines sus-hépatiques sont beaucoup plus minces et leur texture est beaucoup plus lâche que celle des parois des veines portes.

Nous n'avons constaté aucune altération des vaisseaux coronaires ni des gros vaisseaux de la base du cœur, sauf dans un cas. Il s'agissait du lapin qui reçut deux injections à un intervalle de 8 jours et qui survécut 15 jours. Nous avons observé dans ce cas une accumulation de leucocytes autour des artères coronaires, mais la présence d'un grand nombre de globules rouges, à côté de ces leucocytes, montrait qu'ils s'agissait d'extra-vasats sanguins.

Dans les parois des vaisseaux pulmonaires nous n'avons constaté aucune altération.

Dans la rate nous avons observé des faits, peut-être, moins importants au point de vue pathologique, mais qui sont intéressants au point de vue anatomique car ils touchent à la question encore discutée du système vasculaire de cette glande.

Nous avons notamment pu constater dans plusieurs des rates examinées, une hyperhémie parfois excessive, en même temps que les éléments propres de la pulpe disparaissaient presque complètement dans ces régions si hyperhémisées.

Dans un cas, on ne voyait que les follicules entourés de sang de toutes parts, tandis que les éléments propres de la pulpe y étaient disséminés sous forme de quelques exemplaires.

Par contre, on voyait très nettement dans ces mêmes régions très hyperhémisées, les cellules endothéliales fixées entre elles et formant ainsi des tractus disposés, soit parallèlement les uns aux autres, soit formant des anneaux ou des ovoïdes réguliers (planche 2, fig. 9). Cette régularité est d'autant plus marquée, que le segment donné de la rate est plus riche en sang (planche 2, fig. 8). L'examen attentif de cette disposition régulière des

endothéliums unis les uns aux autres fait supposer que ces formations représentent peut-être le réseau capillaire de la rate.

Etant donnée la facilité relative avec laquelle se rompt la paroi endothéliale des glomérules du rein, il faut admettre que, sous l'influence de l'hyperhémie, un grand nombre de ces tractus endothéliaux de la rate se sont rompus, mais qu'à l'état normal la régularité de ces formations est encore plus nette.

Ces tableaux démontrent qu'il existe dans la rate un certain nombre d'endothéliums très fortement unis les uns aux autres et régulièrement disposés, même lors qu'il existe une hyperhémie extrêmement marquée. Aussi, est-il probable que ces cellules endothéliales, liées entre elles, forment les parois des capillaires spléniques ; tous les autres éléments de la pulpe sont plus ou moins lâchement fixés les uns aux autres, ainsi qu'aux capillaires, et, dans certaines conditions, ces éléments de la pulpe splénique peuvent, en quantité considérable, être éliminés de la rate et être déversés dans le sang.

Ces recherches terminées, nous avons fait des expériences analogues avec la toxine du botulisme, et nous avons obtenu des résultats semblables à ceux que nous ont donné les injections de toxine diphtérique. Ces recherches n'étant pas encore complètement terminées, nous les publierons sous peu.

En terminant notre travail, nous considérons comme un devoir d'exprimer notre respectueuse reconnaissance au professeur Metchnikoff pour avoir bien voulu nous recevoir dans son laboratoire, nous avoir fourni le sujet de nos recherches et s'y être vivement intéressé. Nous adressons également nos vifs remerciements au docteur Besradka qui a eu l'obligeance de nous aider dans notre travail.

MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES DANS LA PESTE BOVINE

PAR LE D^r RÉFIK-BEY

Nous avons étudié, sur les conseils et sous la direction du D^r Nicolle, les variations des leucocytes chez un grand nombre de bovidés soumis à l'infection expérimentale mortelle, ainsi que dans les quelques cas particuliers suivants : animal guéri de la maladie inoculée, animal vacciné par la bile, animaux vaccinés par le sérum, animal hyperimmunisé avec le lavage péritonéal¹.

Avant de présenter le résultat de nos recherches, nous mentionnerons que le nombre des globules blancs, chez les bovidés normaux, oscille entre 7,000 et 11,000 environ par mm. c. Le nombre des mononucléaires et des lymphocytes réunis varie de 4,500 à 6,500 environ par mm. c.; celui des polynucléaires de 1,500 à 3,500 environ. On voit donc que les premiers l'emportent toujours sur les seconds; leur proportion atteint, selon les cas, de 57 à 84 0 0 de la quantité totale. Les chiffres précédents sont basés sur de nombreux examens. Ajoutons que les éosinophiles peuvent faire défaut chez les bovidés, mais le fait demeure exceptionnel (voir, comme exemple, la courbe n° 5); lorsqu'ils existent, leur proportion varie énormément. Quant aux basophiles, ils se montrent inconstants et restent à l'état d'unités dans les cas positifs.

Il va sans dire qu'aucun des animaux qui ont servi à notre travail n'offrait d'hématies infectées par le *piroplasma bigeminum*.

MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES DANS L'INFECTION MORTELLE

Chiffre total des leucocytes. — On observe, le plus souvent, une augmentation initiale, suivie d'une diminution, puis d'une augmentation; ces deux dernières constantes.

Augmentation initiale. — Elle a lieu le 2^e ou le 3^e jour, époque où l'on a pu compter jusqu'à 18,300 globules par mm. c. Le nombre commence à baisser le 4^e jour, parfois le 3^e.

Diminution. — Le minimum est atteint le 5^e jour, quelquefois le 4^e, exceptionnellement le 6^e ou le 7^e. Le chiffre le plus bas que nous ayons noté correspondait à 2,000 leucocytes par mm. c. Le minimum leucocytaire s'observe généralement le jour de l'élévation thermique, rarement la veille, parfois le 2^e ou le 3^e jour de la fièvre.

1. Pour ce procédé d'hyperimmunisation, voir *An. Inst. Past.* XV, p. 728.

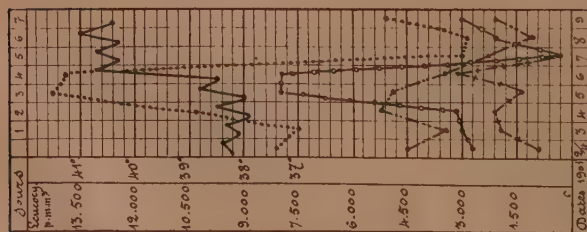


Fig. 1. — Animal d'Anatolie, âge de 8 mois (N° 74-112). Reçoit, le 25 mars 1901, 5 c. c. de virus — signes et lésions classiques, sacrifié le 9^e jour.

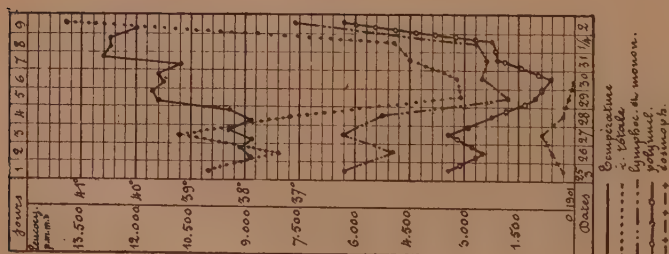


Fig. 2. — Animal de Crimée, âgé d'un an (N° 74-167). Reçoit, le 3 avril 1901, 5 c. c. de virus — signes et lésions classiques, sacrifié le 7^e jour.

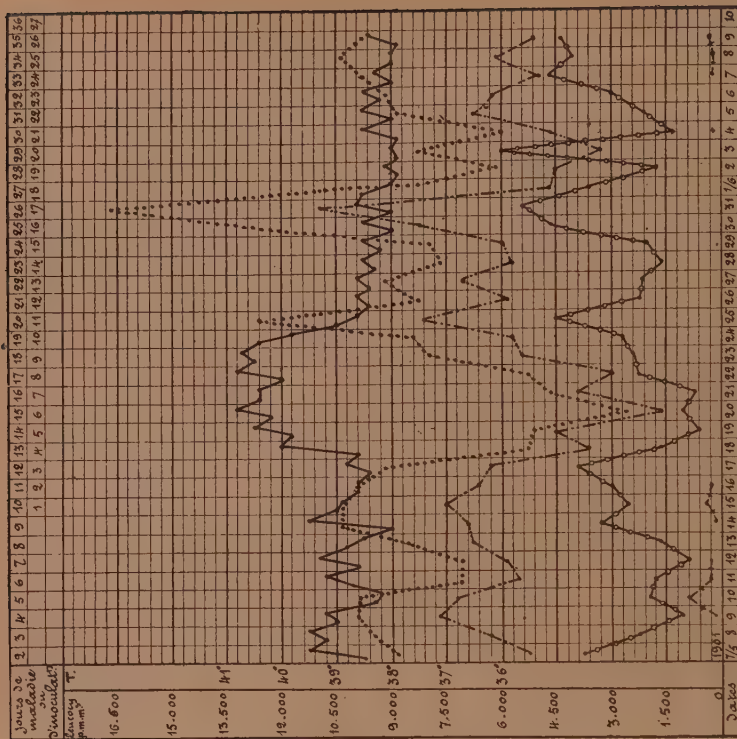


Fig. 3. — Animal mixte (Crimée-Anatolie), âgé d'un an (N° 74-136). Reçoit, le 6 mai 1901, 10 c. c. de bile, conservée 24 heures dans la glacière, — aucune réaction, — Reçoit le 15 mai 1901, 5 c. c. de virus — fièvre seule.

Augmentation terminale. — Elle s'annonce habituellement le

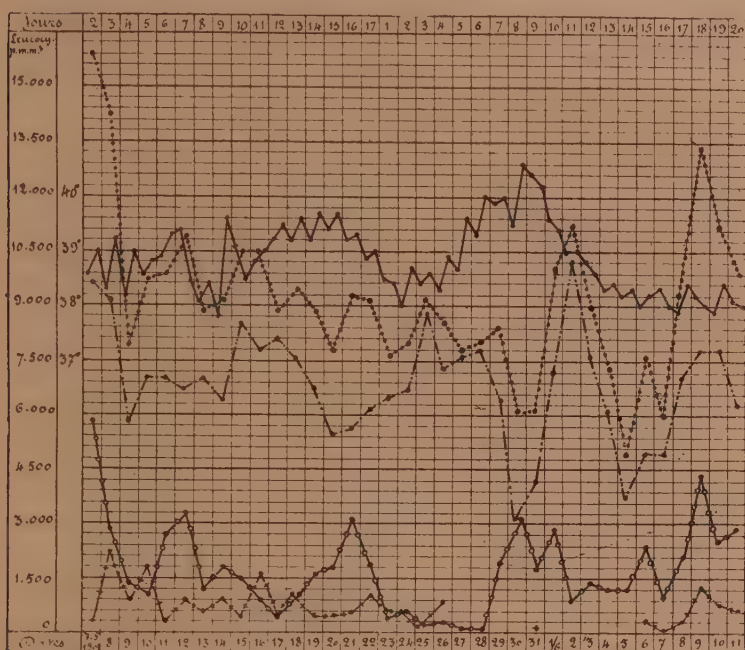


Fig. 4. — Animal mixte (Crimée-Anatolie), âgé d'un an (N° 74-159). Reçoit, le 6 mai 1901, 200 c. c. d'un sérum peu actif. — Reçoit, le 23 mai 1901, 5 c. c. de virus — fièvre seule.

8^e jour, quelquefois le 7^e, exceptionnellement le 9^e. A ce moment, le sujet infecté offre encore, d'ordinaire, de la fièvre (rarement la température est descendue la veille, ou descend le lendemain). En raison des approches de la mort, nous nous trouvions généralement obligé de sacrifier les animaux à cette période, pour recueillir le virus. Dans les cas où, la mort n'étant pas imminente, nous laissons vivre les animaux, nous voyions les leucocytes continuer à augmenter de nombre. Ils dépassaient alors la normale (nous en avons compté, une fois, 45,000 par mm. c.) puis commençaient à redescendre lors de l'agonie.

Chiffre total des mononucléaires (et lymphocytes réunis). — Ils ne participent à l'augmentation initiale que dans la moitié des cas ; il en existe, parfois alors, jusqu'à 12,300 par mm. c. Après la phase, constante, de diminution (minimum observé : 1,000) se manifeste une augmentation progressive. Dans la moitié des cas, le chiffre reste cependant inférieur à la normale ; dans l'autre

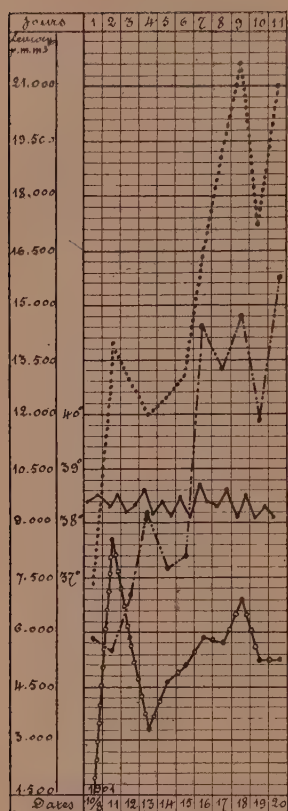


Fig. 5. — Animal mixte (Crimée-Anatolie) âgé d'un an. — Récoité le 10 août 1901, 5 c.c. de sérum et 2 de virus — aucune réaction.

moitié, il l'atteint et la dépasse même si la survie est suffisante (maximum observé : 27,000).

Chiffre total des polynucléaires. — Ils participent, le plus souvent, à l'augmentation initiale (maximum noté : 8,000). Après la diminution, constante (minimum noté : 200), ils augmentent de nombre. Dans la moitié des cas, il y a retour pur et simple à la normale; dans l'autre moitié, on observe une polynucléose d'autant plus marquée que la vie se prolonge davantage (maximum noté : 18,000).

Chiffre total des éosinophiles. — Lorsqu'ils existent, on ne les voit pas augmenter constamment de nombre au début de la maladie. Quand cette augmentation se produit, le chiffre peut atteindre jusqu'à 3,500 par mm. c. Quoi qu'il en soit de ces modifications initiales, les éosinophiles ne tardent pas à diminuer (minimum observé : 200), puis ils disparaissent brusquement et ne se montrent plus jusqu'à la mort.

Remarque. — Le plus souvent, abstraction faite de la période d'augmentation initiale, les courbes des mononucléaires et des polynucléaires suivent une marche parallèle (exemple : la courbe n° 1). Le fait n'a cependant rien d'absolu, comme le démontre la courbe n° 2, dans laquelle la ligne des mononucléaires prend en écharpe celle des polynucléaires. De tels cas se rencontrent, de temps en temps, sans cause apparente.

MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES DANS L'INFECTION CURABLE

Chez l'animal 74-118, dont la courbe (n° 6) sera donnée en dernier lieu, il est facile de voir comment se sont présentées les variations des globules blancs.

Leucocytes en bloc. — On note d'abord les 3 phases classiques : augmentation initiale, diminution, augmentation secondaire. Puis, au moment de la chute de la fièvre, le chiffre vient à bais-

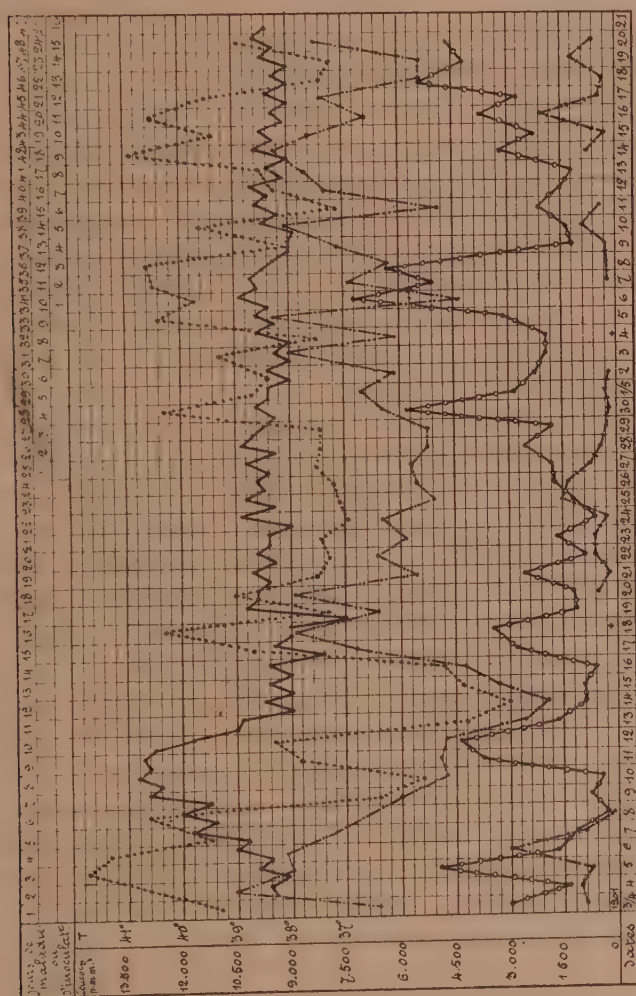


Fig. 6. — Animal gris, âgé de 2 ans (No 74-118). Reçoit, le 3 avril 1901, 1 c. c. de virus; affection légère, curable. Reçoit, le 27 avril 1901, 1 litre de lavage péritonéal; pas de réaction. — Reçoit, le 6 mai 1901, 2 litres de lavage péritonéal; pas de réaction. — On le saigne le 21 mai 1901. Son sérum, inoculé par le procédé Kolle et Turner à un animal sensible, âgé de 2 ans, le préserve sous le volume de 20 c. c.

ser. Enfin, une nouvelle augmentation (maximum le 16^e jour) est suivie d'un retour définitif à la normale.

Mononucléaires et polynucléaires. — Envisagées d'une façon générale, leurs courbes suivent une marche parallèle.

Eosinophiles. — Ils augmentent, diminuent et disparaissent. Puis, ils se montrent à nouveau le 16^e jour.

MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES DANS LA VACCINATION PAR LA BILE

L'animal 74-136, dont nous reproduisons la courbe (n° 3), a montré, pendant l'action de la bile, un diminutif des oscillations leucocytaires qui caractérisent l'infection. Lors de l'épreuve, on a observé une courbe type d'infection, suivie d'une *poussée leucocytaire* offrant son maximum le 17^e jour. Les éosinophiles ont reparu tardivement.

MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES DANS LA VACCINATION PAR LE SÉRUM

Sérum, puis virus. — Dans le cas rapporté ici (animal 74-139, courbe n° 4), on constate tout d'abord une hyperleucocytose passagère, consécutive à l'injection du sérum. Lors de l'épreuve, on voit les leucocytes pris en bloc et les mononucléaires diminuer, puis augmenter de nombre, tandis que les polynucléaires offrent des oscillations sans règle. A noter, encore ici, une *poussée leucocytaire tardive* (le 18^e jour).

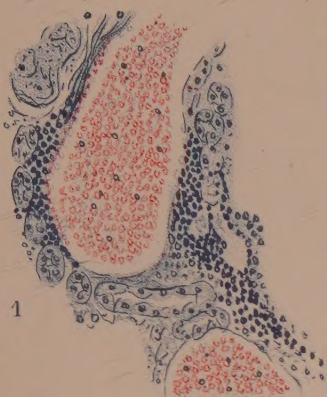
Sérum et virus en même temps (Méthode de Kolle et Turner). — On remarquera (courbe n° 5), coïncidant avec l'absence de toute réaction, même thermique, l'élévation en deux temps du nombre des globules blancs. La diminution relative, que l'on observe momentanément, correspond, sans nul doute, à la diminution absolue, qui caractérise les courbes d'infection. Nous avons dû, malheureusement, interrompre la numération le 11^e jour. L'animal n'a pas cessé ultérieurement de se bien porter.

MODIFICATIONS LEUCOCYTAIRES DANS L'HYPERIMMUNISATION AVEC LE LIQUIDE DE LAVAGE PÉRITONÉAL

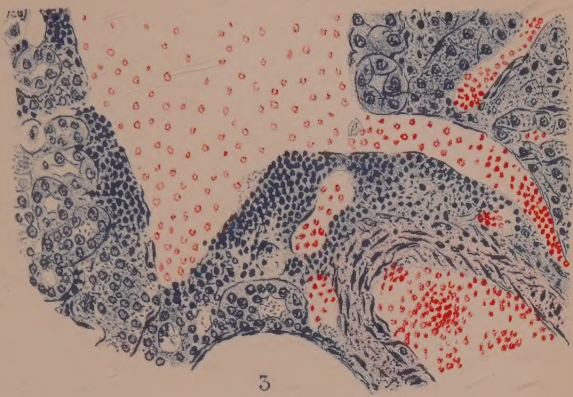
Il s'agit de l'animal 74-118, déjà étudié comme ayant résisté à l'infection expérimentale (courbe n° 6). Son observation ultérieure nous paraît fort instructive, en ce sens qu'elle démontre qu'un sujet peut fournir un sérum parfaitement actif, sans avoir réagi thermiquement. La production des anticorps, comme l'a prouvé M. Metchnikoff, n'est nullement liée, en effet, aux modifications de la température. Elle est, par contre, sous la dépendance intime d'une digestion intraleucocytaire, marchant habituellement de pair avec l'augmentation des globules blancs.

On notera, dans notre cas et contrastant avec l'absence de fièvre, une hyperleucocytose, qui se manifeste sous forme d'oscillations très-caractéristiques. On remarquera, également, que les éosinophiles disparaissent quelques jours après l'inoculation du virus, pour réparaître au bout de 48 à 72 heures.

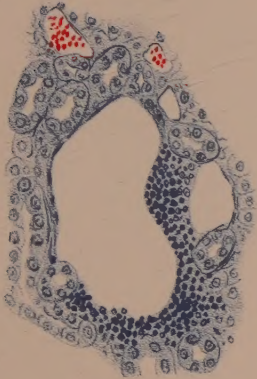
Le Gérant : G. MASSON.



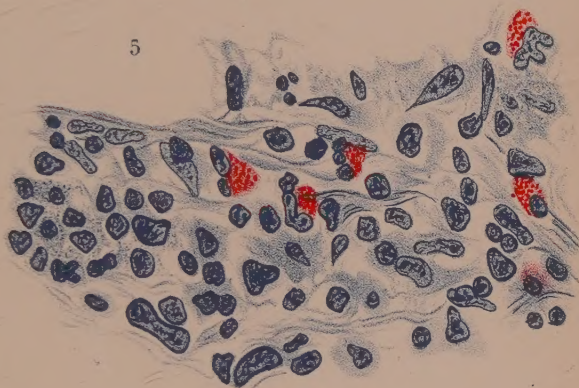
1



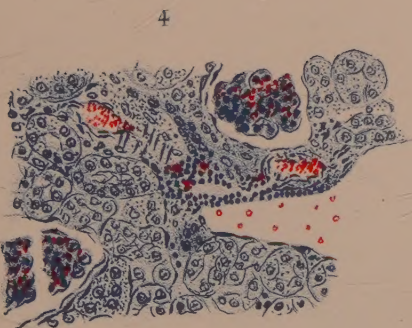
3



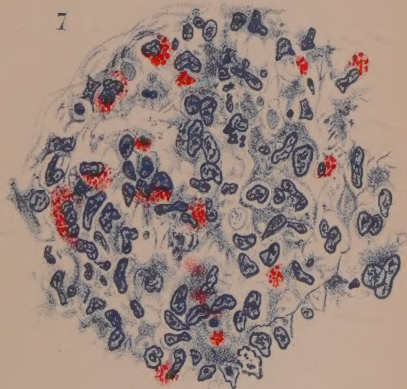
2



5



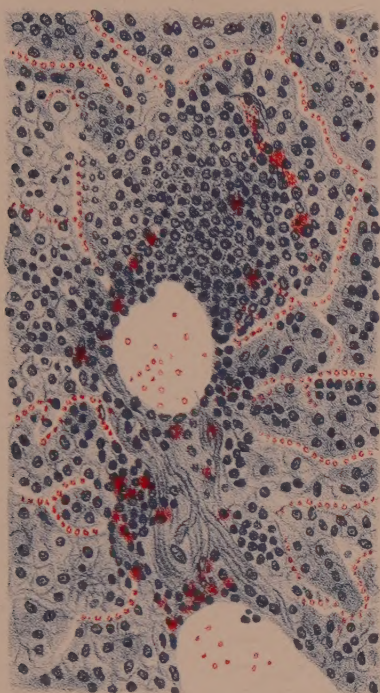
4



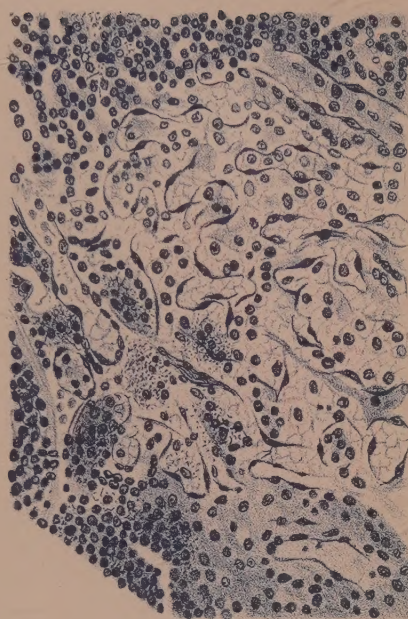
7

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE

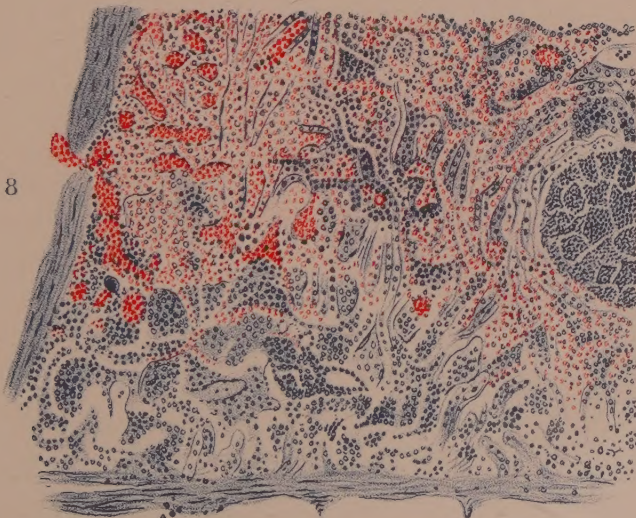
LABORATOIRE
de PATHOLOGIE COMPARÉE



6



9



8

